

UNTERSUCHUNGEN
MIT NATIVEM UND HITZEDENATURIERTEM HOMOLOGEN
ALBUMIN UND GAMMAGLOBULIN
IM RATTENORGANISMUS

von

KARL-HEINZ KLÄHN

1960

Aus der I. Medizinischen Universitätsklinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Professor Dr. Duesberg +

UNTERSUCHUNGEN
MIT NATIVEM UND HITZEDENATURIERTEM HOMOLOGEN
ALBUMIN UND GAMMAGLOBULIN
IM RATTENORGANISMUS

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

KARL-HEINZ KLÄHN
aus Pritzwalk/Brandenburg

MAINZ 1968

Dekan: Prof. Dr. Dr. Thews
Referent: Privatdozent Dr. Gramlich
Korreferent: Prof. Dr. Duesberg +
Tag der mündlichen Prüfung: 11. Mai 1968



Gesamtherstellung:

Ditters Bürodienst Mainz

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I. Einleitung und Grundlagen	1
1. Problemstellung	1
2. Allgemeine Grundlagen der untersuchten Plasmaproteine	1
a) Albumin	2
b) Gammaglobulin	2
3. Denaturierung	3
4. Isotopenmarkierung	5
5. Bildung und Umsatz der Plasmaproteine	5
II. Methodik	12
1. Gewinnung des Untersuchungsmaterials	12
2. Versuchsanordnung	14
3. Auswertung und Meßergebnisse	15
III. Ergebnisse	27
IV. Diskussion	34
V. Zusammenfassung	38
VI. Literaturverzeichnis	41

I. EINLEITUNG UND GRUNDLAGEN

1. PROBLEMSTELLUNG

Obwohl in den letzten Jahren viele neue Einblicke in den chemischen Aufbau sowie in die Physiologie und Pathophysiologie der Bluteiweißkörper gewonnen wurden, sind unsere Kenntnisse über den Plasmaproteinabbau bis jetzt noch spärlich. Um hierzu Ansatzpunkte zu gewinnen, studierten wir das Stoffwechselverhalten denaturierter Plasmaproteine. Für unsere Untersuchungen wählten wir Albumin und Gammaglobulin, die in ihrem physikochemischen Verhalten als sehr unterschiedlich anzusehen sind. Es wurde untersucht, ob native und durch thermische Einflüsse denaturierte Plasmaproteine Unterschiede im Stoffwechsel erkennen lassen. Zu diesem Zweck wurde Ratten Jod-131 markiertes natives und hitzedenaturiertes homologes Albumin und Gammaglobulin injiziert und sowohl der Umsatz als auch die Organverteilung der Proteine geprüft.

2. ALLGEMEINE GRUNDLAGEN DER UNTERSUCHTEN PLASMAPROTEINE

Verschiedene physikalisch-chemische Kriterien dienen zur Charakterisierung von Plasmaproteinen, von denen Elektrophorese und Immunelektrophorese die gebräuchlichsten sind. Entsprechend der eigenen Präparationsmethode zur Gewinnung isolierter Plasmaproteine verwendeten wir die elektrophoretische Charakterisierung. Danach ist Albumin die im elektrischen Feld bei alkalischem pH am schnellsten wandernde Fraktion, während Gammaglobulin die langsamste Wanderungsgeschwindigkeit hat (23).

Bei den globulären Proteinen, zu denen das Albumin und die Gammaglobuline zählen, sind die Polypeptidketten auf komplizierte Art und Weise zusammengefaltet oder geknäuel. Die Aminosäuresequenz der in der Polypeptidkette vorhandenen Aminosäuren wird Primärstruktur genannt. Diese Polypeptidketten sind spiralgig zur sogen. alpha-Helix aufgewunden, wobei diese Anordnung, die als Sekundärstruktur eines Proteins bezeichnet wird, durch Wasserstoffbindungen zwischen benachbarten Carbonyl- und Iminogruppen stabilisiert wird. Die alpha-Helixspirale ist ihrerseits wieder zu einem knäuelartigen Gebilde, der Tertiärstruktur, zusammengefaltet, deren Architektur durch Wasserstoffbindungen, Salzbrücken und Disulfidbindungen garantiert wird. Zweifellos kommt neben der chemischen Struktur der Polypeptidketten der Feinstruktur der Eiweißmoleküle für ihre biologische Wertigkeit erhebliche Bedeutung zu (23, 43, 92).

a) Albumin

Albumin macht ca. 50 - 60% aller Plasmaproteine aus. Mit einem Molekulargewicht von 69 000 ist es eines der feinstdispersen Plasmaproteine. Die Plasmaalbumine sind infolge ihres kleinen Molekulargewichtes und ihres regelmäßigen Überwiegens der osmotisch wirksamste Teil des Blutplasmas (23, 43, 78). Weiterhin erfüllen die Albuminpartikel Vehikelfunktionen, indem sie mit allen möglichen Stoffen Komplexe bilden. Viele wasserunlösliche Stoffe können nur in Form solcher Eiweißkomplexe transportiert werden (23, 70, 78). Das Albuminmolekül besteht aus einer einzigen Peptidkette; die tertiäre Raumstruktur wird durch 16-17 Disulfidbrücken und durch Tyrosinhydroxycarboxylgruppen stabilisiert (43, 92). In der Aminosäurezusammensetzung unterscheidet sich das Albumin von den übrigen Plasmaproteinen vor allem durch den niedrigen Tryptophangehalt. Die Spezifität wird durch die wechselnde Aminosäuresequenz in der Primärstruktur bestimmt (78, 92).

b) Gammaglobulin

Bei papierelektrophoretischer Darstellung bildet das Gammaglobulin eine einheitliche Bande. Durch Immunelektrophorese läßt sich das elektrophoretisch einheitliche Gammaglobulin noch in mehrere Komponenten zerlegen. Den Hauptanteil stellen die Gamma-G-globuline dar; in wesentlich geringeren Mengen sind Gamma-A- und Gamma-M-globuline im Blutplasma enthalten. Neuerdings wurden noch die in geringen Konzentrationen im Plasma vorkommenden Gamma-D- und Gamma-U-globuline nachgewiesen (23, 42, 92). Die Gamma-G- und Gamma-A-globuline haben ein annähernd gleiches Molekulargewicht von 150 000 (4, 42). Die Gamma-M-globuline sind Makroglobuline, welche sich aus sechs monomeren Untereinheiten mit einem Molekulargewicht von ungefähr 150 000 zusammensetzen, die durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind (42, 43). Durch Auflösung dieser Disulfidbrücken in Gegenwart von Mercaptanen (Cystin, Cystamin) erfolgt eine Dissoziation in die Untereinheiten; eine teilweise abweichende Antigenstruktur dieser Fragmente und ihr hoher Kohlenhydratgehalt von 10,4% schließen eine Identität mit den Gamma-G-globulinen aus (43, 78, 92).

Zur Strukturaufklärung wurden durch Fermente (Pepsin, Papain), Reduktionsmittel (Mercaptoäthanol) und Agentien, die Wasserstoffbrücken lösen (Harnstoff, Propionsäure), Human-, Pferde- und Kaninchengammaglobulin in Fragmente beziehungsweise Peptidketten zerlegt. Der Hauptanteil der Gammaglobulinfraktion, die Gamma-G-globuline, bestehen aus vier Polypeptidketten, zwei H-Ketten vom Molekulargewicht 50 000 und zwei L-Ketten vom

Molekulargewicht 20 000; diese vier Polypeptidketten werden durch Disulfid- und Wasserstoffbrücken zusammengehalten. Die L-Ketten, die in allen Immunglobulinen gemeinsam vorkommen, bestimmen die Antikörperspezifität; dagegen sind die H-Ketten jeweils für eine Klasse der Immunglobuline spezifisch (25, 42).

Die Behandlung von Gammaglobulinen mit den verschiedensten proteolytischen Enzymen liefert immer gleiche Spaltstücke. Es scheint, als ob ein bestimmter Bezirk der H-Kette für Spaltungen leichter zugänglich ist. Durch Papainisierung ließen sich Gammaglobuline verschiedener Spezies infolge Lösung von Peptidketten in drei Fragmente aufspalten. Die identischen Bruchstücke I und II, die Gammaglobulinanteile sind und Antikörperaktivität besitzen, enthalten die L-Ketten und wahrscheinlich Teile der H-Ketten. Dagegen enthält das die Artspezifität der Gammaglobuline bestimmende Bruchstück III nur Teile der H-Ketten (25, 71, 72).

Ob alle Gammaglobulinmoleküle Antikörpereigenschaften besitzen oder es auch immunologisch inerte Gammaglobulinmoleküle gibt, wird noch diskutiert. Es gibt keine physikalischen oder chemischen Methoden, die es gestatten, Antikörper und inerte Gammaglobulinmoleküle zu unterscheiden (32). Der gemeinsame Bildungsort (4, 15, 65, 68), die Reduzierung der Gammaglobuline bei Menschen mit einer Agammaglobulinämie sowie die daraus resultierenden Folgen (5, 78) und der niedrige Gammaglobulinspiegel bei unter sterilen Bedingungen aufgezogenen Ratten (36) sprechen zumindest für die Antikörpurnatur eines großen Teiles der Immunglobuline. Durch Antigeneinwirkung werden existierende Gammaglobuline nicht zu Antikörper umgebaut, sondern die Antikörper werden de novo in den Zellen des RES gebildet (32). Die Antikörperaktivität führt man nicht auf die unterschiedliche Primärstruktur, sondern auf Abweichungen in der Sekundär- und Tertiärstruktur der Gammaglobulinmoleküle zurück (78).

3. DENATURIERUNG

Die Denaturierung der Plasmaproteine kann durch die verschiedensten physikalischen und chemischen äußeren Einflüsse erfolgen (8, 23, 62). Da es aber keinen allgemeinen Denaturierungsmodus zu geben scheint, wird hier nur auf die Hitzedenaturierung eingegangen.

Die Denaturierung scheint nicht dem Alles- oder Nichts-Gesetz zu folgen, sondern über Zwischenstufen vor sich zu gehen (39, 49, 62, 80). Bei hoher Temperatur verläuft die Denaturation "verschmiert" in einem einzigen Re-

aktionsschritt, bei niedrigen Temperaturen schrittweise, wobei sie in der primären Phase noch reversibel sein kann (49, 62). Die schrittweise Denaturierung beginnt primär mit der Lösung von Wasserstoffbrückenbindungen; es muß ein kritischer Teil von Wasserstoffbrücken rupturiert werden bis sich die Helixketten der Sekundärstruktur frei bewegen können. Diesem Schritt folgt eine Hydratation der aufgebrochenen Bindungen und damit die Ausdehnung des Moleküls. Als nächstes wird eine Trennung elektrostatischer Bindungen in der frei beweglichen Peptidkette angenommen, die Änderungen in der Ionenbindung zur Folge hat, wodurch eine Aggregationsneigung von verschiedenen Molekülen bedingt sein kann (62). Bei der irreversiblen Denaturierung kommt es zur Bildung zwischenmolekularer Dithio-, Salz- oder Wasserstoffbrücken. Ob dieses zur Bildung von globulären oder fadenförmigen Aggregaten führt, ist ungeklärt (39). Koagulation und Gelbildung stehen am Ende der Denaturation (62). Entsprechend der Entwicklung der Untersuchungsverfahren verfeinerte sich der Begriff der Denaturierung. Letzten Endes wird das native Protein nur noch durch negative Aussagen charakterisiert, nämlich als ein Protein, an dem keine Denaturierungserscheinungen nachgewiesen werden können (62). Durch entsprechende Untersuchungsmethoden, von denen drei genannt werden sollen, läßt sich das Ausmaß der Denaturierung in etwa abschätzen:

- a) Veränderungen an Plasmaproteinen infolge Hitzedenaturierung können elektrophoretisch nachgewiesen werden. Die Veränderung der Wanderungsgeschwindigkeit tritt bei den Gammaglobulinen von Temperaturen über 58-60°C an auf; als etwas stabiler denaturierenden Einflüssen gegenüber erweisen sich Albumine (47, 50, 80).
- b) Weiterhin lassen sich Denaturierungserscheinungen an Plasmaproteinen durch Steigerung der proteolytischen Wirkung des Verdauungsferments Trypsin nachweisen. Temperatureinwirkungen von 60-70°C erhöhen die Verdaubarkeit der Proteine.
Die Erhöhung der Empfindlichkeit hitzedenaturierter globulärer Eiweißkörper gegenüber proteolytischen Einflüssen hängt vermutlich mit der Auflösung der sekundären und tertiären Eiweißstrukturen zusammen (48, 49).
- c) Ein weiterer empfindlicher Nachweis von Denaturierungserscheinungen an Plasmaproteinen kann durch Steigerung der Adsorption an beliebige Oberflächensysteme erbracht werden; meistens steigt die Adsorption mit wachsender Denaturierung an (62).

4. ISOTOPENMARKIERUNG

Biologische Substanzen können ohne Änderung der Eigenschaften mit Radioisotopen etikettiert werden. Man unterscheidet zwischen innerer und äußerer Markierung. Die innere Markierung von Plasmaeiweißen geschieht mittels C-14-Aminosäuren etwa Glykokoll oder S-35 -markierten Thioaminosäuren (Methionin, Cystin), die intravenös verabreicht werden. Nach der Verteilung im Aminosäurepool werden diese C-14-Aminosäuren oder S-35-markierten Thioaminosäuren in vivo bei der Neubildung von Plasmaproteinen eingebaut.

Die äußere Markierung von Plasmaproteinen erfolgt durch Jod-131 in vitro. Dabei wird Jod-131 gegen Wasserstoffatome an den Benzolringen der Aminosäuren Tyrosin und Tryptophan ausgetauscht.

Die Nativität der markierten Plasmaproteine läßt sich bei Bestimmung ihrer Überlebenszeit im Organismus prüfen. Grundsätzlich darf gelten, daß nur bei äußerer Markierung Denaturierungserscheinungen zu befürchten sind; zwei Ursachen sind zu bedenken:

- 1) Strukturschäden bei der Präparation der Plasmaproteine und
- 2) Denaturierungseinflüsse beim Jodierungsvorgang.

Da derartige Schädigungen bei innerer Markierung nicht zu befürchten sind, kann die Überlebenszeit innerlich markierter Plasmaproteine als Vergleichsmaß für die molekulare Unversehrtheit äußerlich mit Jod-131 markierter Proteine angesehen werden. In der Tat verkürzt sich die Überlebenszeit von Jod-131-Proteinen mit steigender Einführung von Jodatomen in die Benzolringe (sogen. Überjodierung -20, 26). Das beim Abbau der Jod-131-markierten Plasmaproteine entstehende freie Jod wird im Gegensatz zu den beim Abbau der biosynthetisch markierten Proteine freiwerdenden S-35-Thioaminosäuren nicht wiederverwendet. Damit eignet sich die äußere Markierung im besonderen Maße zum Studium des Eiweißabbaus.

5. BILDUNG UND UMSATZ DER PLASMAPROTEINE

Der Hauptsyntheseort für die Plasmaproteine ist die Leber; nur die Gammaglobuline werden außerhalb der Leber gebildet (61).

Blutplasmaproteine mit sehr schnellem Umsatz wie z. B. Fibrinogen und Haptoglobin sind am schnellen Gesamteiweißumsatz zu 3-5% beteiligt (63, 92). Bei niedrigem Eiweißangebot mit der Nahrung ist der Plasmaproteinkatabolismus besonders der Albumine und Gammaglobuline vermindert (60, 88), dagegen ist bei vermehrtem Eiweißangebot der Umsatz gesteigert (60, 73). Die Umsatzrate sowie die Synthese sind also von der Größe des Proteinpools ab-

hängig (53). Ganz allgemein läßt sich sagen, daß der Abbau eines Plasmaproteins seiner Synthese im Sinne eines Gleichgewichts (steady state) entsprechen muß, damit ein konstanter Plasmaproteinspiegel aufrecht erhalten bleibt (23, 24, 43, 58). Allgemein wird sowohl beim Albumin- als auch beim Gammaglobulinumsatz die Synthese als der regulierende Faktor betrachtet (24, 73). Zur Regulation des Plasmaproteinniveaus im Blut hat SCHEURLIN die Hypothese aufgestellt, daß eine umgekehrte regulatorische Beziehung zwischen der Albuminkonzentration und der gesamten Globulinkonzentration besteht (76). Dieses inverse Verhalten ist im allgemeinen auf eine Richtung beschränkt, denn eine Erhöhung des Albuminspiegels im Blut kommt nicht vor. Bei Erhöhung des Gammaglobulinspiegels wie z. B. infolge entzündlicher Erkrankungen finden sich die Albumine im Blut vermindert. Dagegen ist bei Plasmazelltumoren oft das Gesamteiweiß im Serum erhöht, so daß die Relation der Plasmaproteine untereinander gewahrt bleibt.

Plasmaproteine werden ständig zwischen dem extra- und intrazellulären Raum ausgetauscht (dynamisches Gleichgewicht). Die Elimination der Plasmaproteine scheint ein zufälliger Vorgang zu sein, der unabhängig vom Alter der Proteinmoleküle ist (1); die Folge ist eine breite Streuung des Molekülalters der Plasmaproteinpartikel (92). Die nach intravenöser Injektion von radioaktiv markierten Plasmaproteinfraktionen erhaltenen Kurven des Aktivitätsabfalls mit der Zeit können zur Bestimmung der Umsatzrate der einzelnen Fraktionen herangezogen werden. 5 - 10 Minuten nach intravenöser Injektion ist das betreffende Protein gleichmäßig im Kreislaufsystem verteilt (12). Danach erfolgt ein exponentieller Abfall der Radioaktivität im Plasma. In der ersten Phase des Kurvenverlaufs, die mit 4 - 8 Tagen angegeben wird, zeigt die in einem semilogarithmischen System aufgetragene Aktivität einen steileren Abfall, bedingt durch die Vermischung der im Blut befindlichen markierten Eiweißmoleküle mit den unmarkierten Molekülen der extravaskulären Eiweißreserve und durch den Abbau der zugeführten markierten Plasmaproteine (2, 9, 11, 12, 64, 66, 75). In den gut durchbluteten Organen Leber, Milz und Herz stellt sich der Konzentrationsausgleich innerhalb kurzer Zeit ein, während er in der Lunge, der Muskulatur und den anderen Geweben signifikant später erfolgt (12). Die Herstellung dieses Gleichgewichtszustandes wird beim Albumin schneller als bei den Globulinfraktionen erreicht (51).

Die zweite Phase des Aktivitätsabfalls dokumentiert sich in einem langsameren Aktivitätsabfall, der in einem semilogarithmischen System sich fast linear darstellt. Der Aktivitätsabfall der zweiten Phase dient als Maß für die Umsatzgeschwindigkeit des untersuchten Plasmaproteins (9, 12, 66); aus diesem

zweiten Teil der Aktivitätskurve wird die Halbwertszeit des Plasmaproteinumsatzes berechnet. Die Halbwertszeit einer radioaktiven Substanz ist definiert durch die Zeitdauer, in der gerade die Hälfte seiner Masse zerfällt, oder, da die Strahlungsmenge pro Zeiteinheit der Anzahl der noch verbleibenden Atome proportional ist, auch die Zeitspanne, innerhalb welcher sich die Strahlungsintensität um den halben Betrag ihres ursprünglichen Wertes verringert hat. Die Halbwertszeithängt außer von der untersuchten Eiweißart auch von der Präparationsmethode ab. So weisen mit Ammoniumsulfat gefällte Plasmaproteine eine längere Halbwertszeit auf als mittels Methanol oder Äthanol fraktionierte Eiweiße (57, 89).

Der Abbau der Plasmaproteine in vivo geschieht durch proteolytische Fermente wahrscheinlich bis zur Aminosäurestufe (8, 40, 54, 60, 92), wobei die Aminosäuren in den Aminosäurepool eingehen und wieder zum Aufbau von Plasma- und Körpereiweiß verwendet werden können (40, 45, 54, 55, 74, 77, 92). Der Mechanismus des Albumin- und Gammaglobulinumsatzes scheint verschieden zu sein (1).

a) Albumin

Der Hauptsyntheseort ist die Leber (60, 61, 63). Tierexperimentelle Ergebnisse zeigen, daß nach Hepatektomien ein starker Abfall des Plasmaalbuminspiegels eintritt (63). Albumin wird im sogen. Albuminpool, der das intravasal und extravasal im Interstitium und in den Zellen vorhandene Albumin zusammenfaßt, gespeichert.

Wie Untersuchungen am Menschen mit homologem Jod-131-Albumin ergaben, befinden sich 60% des gesamten Albumins in den extravaskulären Räumen; dabei enthalten Haut und Muskulatur auf Grund ihrer Masse 50% des austauschbaren Albumins. Das Plasma und die extravasulären Räume von Haut, Muskulatur und den großen Thorax- und Bauchorganen beinhalten 75-80% des austauschbaren Albumins. Nur 1% des gesamten Albumins ist im Interstitium der Leber enthalten (75).

Die Halbwertszeit für das Albumin ist beim Menschen mit 13 - 18 Tagen bestimmt worden (9, 12, 82); bei der Ratte liegt die Halbwertszeit zwischen 1,8 - 3,8 Tagen (1, 45, 55, 63, 67, 89). Die für die Halbwertszeit beim Menschen ermittelten Werte weisen nach anderen Angaben Streuungen von 12 - 65 Tagen auf (53, 64), wobei neben der schon erwähnten Präparationsmethode (57, 89) besonders die radioaktiven Markierungsarten eine Rolle spielen dürften. Wie schon erwähnt, repräsentieren die unter Verwendung biosynthetisch markierter Proteine gewonnenen Halbwertszeiten am ehesten den natürlichen Eiweißumsatz (64).

Erheblichen Spielraum der Halbwertszeiten weisen Jod-131-markierte Albumine auf. Die mitgeteilten, teils erheblichen Streuungen sind aller Wahrscheinlichkeit nach methodisch bedingt, wobei ungenügende Sorgfalt bei der Gewinnung und Jodierung zu Alterationen der Proteinmoleküle führt (11, 26, 82). Denaturierte Moleküle verschwinden schneller aus dem Blutstrom (11, 26). Dabei scheinen Unterschiede im Eliminationsmechanismus von hitzedenaturierten und durch Überjodierung denaturierten Albuminmolekülen zu bestehen (26). Mit zunehmender Denaturierungstemperatur finden sich die Albumine vermehrt in der Leber und dementsprechend vermindert im Blut (52).

In der isolierten perfundierten Rattenleber wird bei 80% hitzedenaturiertes Rinderalbumin 2 - 5 mal schneller als homologes natives Albumin abgebaut (18). Neben der Albuminalteration durch Hitzedenaturierung scheint hier für den beschleunigten Abbau auch die Herkunft des Albumins von einer anderen Tierart von Bedeutung zu sein. Ganz allgemein gilt, daß heterologes Albumin in der Regel schneller als homologes eliminiert wird (27, 44, 89).

Der Aufbau und Abbau des Albumins scheint sich über die Stufe der Aminosäuren zu vollziehen. Bei biosynthetisch markierten Plasmaproteinen bewirken die nach dem Abbau zur Aminosäurestufe erscheinenden S-35-Aminosäuren (Cystin, Methionin) durch Einbau in andere Plasmaproteine und auch in Gewebsproteine deren radioaktive Markierung (8, 40, 54, 77). So erfolgt nach intravenöser Injektion von S-35-markierten Albuminen bei Ratten nach deren Abbau zu Aminosäuren eine Wiederverwendung der im extravaskulären Pool befindlichen Thioaminosäuren zum Aufbau von S-35-Globulinen aller Fraktionen (55); Ratten intraperitoneal injiziertes heterologes S-35-Albumin wird innerhalb von vier Tagen nach Applikation in körpereigene Serum- und Gewebsproteine umgebaut, wobei diese ebenfalls über den Abbau zu Aminosäuren und deren Wiederverwendung entstehen (74).

Stoffwechselstudien mit Jod-131 markiertem Humanalbumin lassen vermuten, daß der Albuminumsatz in Relation zum intravaskulären Proteinspiegel steht (59). Beim normalen Menschen beträgt nämlich die Urinaktivität nach Injektion von Jod-131 markiertem Humanalbumin ziemlich konstant 8% der Plasmaaktivität (58, 59). Stellt man diesen konstanten Bruchteil der Urinaktivität von 8% in Rechnung, so läßt sich der Gesamtalbuminumsatz mit 8 - 14 g pro Tag angeben (58).

Bis vor kurzem wurde die Leber noch als Hauptabbauort aller Plasmaproteine angesehen (28, 35, 63). Wie partielle Hepatektomien an Ratten und Perfusionsversuche an isolierten Rattenlebern zeigten, vollziehen sich aber nur 25 - 50% des Gesamtalbuminkatabolismus in der Leber (46). Andere Autoren

billigen sogar an Hand von Perfusionsversuchen an isolierten Rattenlebern der Leber nur 15% des Gesamtalbuminkatabolismus zu (18, 29, 30). Der Leber scheint im Plasmaproteinabbau eine größere Bedeutung zuzukommen als den Nieren, da die partielle Hepatektomie von 40% bei Mäusen wirksamer den Albuminkatabolismus reduzierte als die komplette Nephrektomie (28). Die Milz, die einen wesentlichen Teil des RES beinhaltet, hat keinen Einfluß auf den Albuminkatabolismus. Jedenfalls beeinflußt die Splenektomie bei Ratten den Jod-131-Albuminabbau nicht signifikant. Was nun die Zellen des RES als vermuteten Ort des Plasmaalbuminumsatzes angeht, so konnten zumindest die Kupfferschen Sternzellen für den Abbau nativer Plasmaproteine ausgeschlossen werden. Nach Blockierung des RES mit kolloidalen Stoffen (Kohlepartikel, Thorotrast) zum Beispiel ändert sich der Albuminumsatz nicht (26, 85). Dagegen scheint das RES denaturiertes Plasmaalbumin selektiv abzufangen (10, 13, 84). Demnach ist zu vermuten, daß für native und denaturierte Plasmaproteine unterschiedliche Abbauege existieren.

Als weiterer Ort des Albuminabbaus wird der Magen-Darmtrakt diskutiert. Mit Hilfe der Untersuchungstechniken mit Jod-131 markiertem oder besser mit Cr-51 markiertem Albumin konnte gezeigt werden, daß Hypoproteinämien bei einer Reihe intestinaler Erkrankungen auf einen abnormen Verlust von Plasmaproteinen in das Lumen des Gastrointestinaltraktes beruhen (31, 60, 87). Mit immunochemischen Methoden konnte der Nachweis erbracht werden, daß auch beim gesunden Menschen in nicht unbeträchtlichen Mengen Plasmaproteine im Magen- und Darmsaft abfiltriert werden (6, 7). In der Hauptsache haben sich im Succus intestinalis Albumine und Gammaglobuline nachweisen lassen (6). Auch bei der Ratte konnte transferiertes Plasmaalbumin im Duodenum nachgewiesen werden (3). Dabei ist nicht klar, ob eine selektive Ausscheidung einzelner Eiweiße oder lediglich ein Durchsickern von plasmahaltigem Material durch die Intestinalwand erfolgt (7). Die im Magen-Darmtrakt des Menschen pro die ausgeschiedene Albuminmenge wird mit 8-9 g angegeben (7, 90, 92); dabei soll der Abbau hauptsächlich im Jejunum vor sich gehen (90). Damit würde das Intestinalsystm als Hauptabbauort der Plasmaalbumine beim Menschen anzusehen sein.

Nach anderen Autoren sollen allerdings nur 20% des Gesamtalbuminsatzes (beim Menschen ca. 2 - 3 g pro die) auf den Gastrointestinaltrakt entfallen. Diese Autoren verlegen 50% des Albuminumsatzes in das RES, insbesondere in die Leber. In der Muskulatur und der Haut wird ein nur unbedeutender Albuminkatabolismus angenommen (41, 46).

Auch in der Lunge und den Lymphknoten finden keine wesentlichen Abbauprozesse statt (41).

b) Gammaglobulin

Gammaglobuline werden nicht in der Leber synthetisiert (60). Neben den Plasmazellen scheinen bestimmte Zellen der Keimzentren des lymphatischen Systems an der Synthese von Gammaglobulin beteiligt zu sein (4, 15, 21, 60, 63, 65, 68, 92). Milz, regionale Lymphknoten und Knochenmark werden als Hauptsyntheseorte der Gammaglobuline angesehen (23); auch die Mucosa des Dünndarms bildet mit ihrem lympho-retikulären Apparat Gammaglobuline (23, 38). Alle diese Organe enthalten Plasmazellen beziehungsweise lymphatische Keimzentren.

Das Fehlen oder die Verminderung der Plasmazellen bei Agamma- und Hypogammaglobulinämie beweist deren Beteiligung an der Gammaglobulinbildung (4, 5, 15, 21). Die Abgabe der von Plasmazellen gebildeten Gammaglobuline erfolgt, wie einzelne Autoren annehmen, durch apokrine oder holokrine Sekretion (68, 83). Die Synthesekapazität der einzelnen Plasmazellen scheint eng begrenzt zu sein, da eine Vermehrung der Gammaglobuline mit einer gesteigerten Zahl von Plasmazellen einhergeht (68, 92).

Ein wichtiges Stimulans für die Gammaglobulinbildung ist der ständige Kontakt des Organismus mit Mikroorganismen. Bei Tieren, die unter sterilen Bedingungen gehalten werden, sind in der Zone der Gammaglobuline immunelektrophoretisch nur Proteinspuren nachweisbar (33, 36).

Synthese und Katabolismus halten sich die Waage (4, 24); dabei scheint die synthetisierte Proteinmenge der primär regulierende Faktor zu sein (24). So ist der Gammaglobulinumsatz bei Patienten mit Plasmazelltumoren oder entzündlich bedingter Hypergammaglobulinämie erhöht (14, 24, 81); genau dasselbe zeigte sich an Mäusen mit Plasmazelltumoren (44). Andererseits haben Patienten mit niedrigem Gammaglobulinspiegel einen reduzierten Katabolismus von Gammaglobulinen (24).

Bei Injektionen des durch Papainisierung gewonnenen Gammaglobulinfragments III erhöhte sich die Abbaurate ebenfalls, während die Fragmente I und II keinen Einfluß hatten und eher die Halbwertszeit etwas verlängerten. Der Eliminationsmechanismus scheint also offenbar am Fragment III anzugreifen (14).

Die Halbwertszeit des menschlichen Gammaglobulins wird mit 20 - 26 Tagen angegeben (4, 17, 81, 92). Bei der Ratte ist der Gammaglobulinumsatz langsamer als der Umsatz der anderen Plasmaproteine; die angegebenen Halbwertszeiten schwanken zwischen 5 und 7,4 Tagen (1, 45, 63, 89). Hierbei ist wiederum für die ermittelten Werte der Halbwertszeit neben der Markierungsweise die Gewinnungsmethode von Bedeutung; so hat durch Äthanolfraktionierung dargestelltes Gammaglobulin eine längere Halbwertszeit als durch Ammoniumsulfatfällung gewonnenes (89).

Im allgemeinen wird heterologes Gammaglobulin schneller als homologes eliminiert. Nur das Kaninchengammaglobulin bildet eine Ausnahme, da seine Halbwertszeit in verschiedenen Tierarten gegenüber homologem Gammaglobulin verlängert ist (89).

Wie Versuche an Hunden zeigten, scheint der Gastrointestinaltrakt 40% des Gesamtglobulinkatabolismus zu bewerkstelligen; von diesen 40% entfallen wahrscheinlich weniger als 10% auf den Magen. Die Instillation hypertotonischer MgSO_4 -Lösung in eine isolierte Darmschlinge bewirkt ein Ansteigen der Passage von markierten Plasmaproteinen in das Lumen. Dieses Experiment imitiert grob die physiologischen Verhältnisse nach einer Mahlzeit (2). Die durch Transmission in den Gastrointestinaltrakt gelangten Gammaglobulinmoleküle scheinen nicht ausschließlich dem Abbau durch proteolytische Fermente zu verfallen, sondern werden zum Teil von Rezeptoren, die sich an der Oberfläche von Darmepithelzellen oder in der Wand von Pinocytenbläschen befinden, adsorbiert. An diese Rezeptoren gelangte nicht alterierte Gammaglobulinmoleküle sollen unverändert wieder dem Kreislauf zugeführt werden; dagegen verfallen physikochemisch veränderte Gammaglobulinmoleküle dem proteolytischen Abbau (14).

Wie Perfusionsversuche an isolierten Rattenlebern zeigen, scheint der Anteil der Leber am Gesamtkatabolismus des Gammaglobulins 30% zu betragen (19).

Da wahrscheinlich mehr als die Hälfte des Gammaglobulins aus Antikörpern bestehen dürfte, kann ein größerer Teil des Abbaus durch immunologische Prozesse bewerkstelligt werden (2). Hierbei werden die gebildeten Immunkomplexe zum Teil unter Anlagerung von Komplement rasch von den Zellen des RES und von granulocytären Blutleukocyten sequestriert beziehungsweise phagocytisch und proteolytisch verdaut.

Der Abbau erfolgt auch bei den Gammaglobulinen bis zu den Aminosäuren, die dann wieder in Körper- und Plasmaeiweiß eingebaut werden können (40, 54). Nach intraperitonealer Injektion von heterologem S-35 markiertem Gammaglobulin fand man an Ratten, daß das verabreichte Gammaglobulin über den Abbau zu Aminosäuren nach vier Tagen zur Synthese von körpereigenen Plasmaproteinen verwendet worden war (8). Auch bei intravenöser Injektion von S-35-Gammaglobulinen an Kaninchen wird das injizierte Protein bis zur Aminosäurestufe abgebaut; die S-35 markierten Aminosäuren werden dann zur Synthese anderer Plasmaproteine wie zum Beispiel Albuminen verwandt (77).

Meerschweinchen und Kaninchen konnten gegen ihr eigenes denaturiertes Gammaglobulin sensibilisiert werden. Die Autoantigenität alterierten Gammaglobulins ist besonders bei alkalidenaturiertem autologen Gammaglobulin ge-

geben (16, 56). Die sich entwickelnden Antikörper gegen das als Autoantigen wirkende alterierte Gammaglobulin ähneln abgesehen von der unterschiedlichen Sedimentationskonstanten ($S_{20} = 7 \text{ S}$) dem menschlichen Rheumafaktor (16, 79). Eine besondere antigene Wirksamkeit zeigen die durch Papainisierung gewonnenen Fragmente (81). Demnach können offenbar denaturierte Gammaglobulinmoleküle zu autoimmunologischen Prozessen Anlaß geben.

Auf homologes nicht denaturiertes Gammaglobulin reagieren Tiere nicht mit Unverträglichkeitserscheinungen, wohl aber des öfteren der Mensch. Durch Wärmeaggregation werden die Unverträglichkeitserscheinungen noch verstärkt (4, 79). Der Modus dieser Unverträglichkeitserscheinungen ist noch unklar. Durch Desaggregation der Gammaglobulinpräparate mittels Säure (4) oder Pepsin (79) konnte das Auftreten dieser Unverträglichkeitserscheinungen beseitigt werden.

II. METHODIK

1. GEWINNUNG DES UNTERSUCHUNGSMATERIALS

In Äthernarkose wurde Albinoratten der Brustkorb eröffnet und Blut mittels Herzpunktion gewonnen; durch Zentrifugieren erhielten wir daraus das Serum. Die Auftrennung des gepoolten Serums in die einzelnen Plasmaeiweißfraktionen erfolgte durch Vertikalelektrophorese (34, Modell CP Fa. Beckmann). Als Pufferlösung diente Dole-Puffer (pH 8,6; Ionenstärke 0,02). Das Plasma wurde mit dem Puffer im Verhältnis 20 ml Plasma zu 70 ml Dole-Puffer versetzt und in das Durchlaufgefäß eingefüllt. Als Laufzeit der Elektrophorese wurden 10 Stunden gewählt. Bei einer angelegten Spannung von 600 Volt resultierte eine Stromstärke von 40 mA. Zur Gewinnung ausreichender Mengen Albumin und Gammaglobulin wurden 10 Elektrophoresen angesetzt.

Nach der elektrophoretischen Prozedur wurden die Trennvorhänge getrocknet und mit Amidoschwarz 10 B gefärbt; der nicht an Eiweißmoleküle gebundene Farbstoff wurde mit einer Methylalkohol-Eisessig-Lösung (9 Teile Methanol und 1 Teil Eisessig) entfernt. Aus den auf den Trennvorhängen resultierenden trapezoiden Figur ließ sich die Trennschärfe der vorliegenden Fraktionierung beurteilen. Als Gammaglobuline wurden nur die äußersten kathodenwärts befindlichen Fraktionen, als Albumine nur die äußersten zur Anode hin gelegenen Fraktionen ausgewählt. Der mit der Biuret-Methode ermittelte Proteingehalt der mit Pufferlösung während der Elektrophorese verdünnten Albumin- und Gammaglobulinfraktionen war sehr niedrig (0,1 - 0,3 g %). Daraufhin wurde eine Gefriertrocknung vorgenommen; die so gewonnenen Eiweißkonzentrate

wurden von der Isotopenabteilung der Farbwerke Höchst mit Jod-131 markiert. Der Gesamtaktivität pro ml der von den Farbwerken Höchst mit Jod-131 markierten Plasmaproteinfraktionen wurde mittels eines Szintillationszählers mit Bohrlochkristall (Fa. Frieseke und Höpfner, Erlangen) bestimmt; sie lag beim Albumin bei $15,9 \times 10^6$ Imp./Min./ml und beim Gammaglobulin bei $10,4 \times 10^6$ Imp./Min./ml. Die mit der Biuret-Methode bestimmte Plasma-proteinfraktion betrug beim Albumin 0,94 g % und beim Gammaglobulin 0,75 g %. Je die Hälfte der beiden Eiweißlösungen wurde für 30 Minuten in einem Wasserbad von 65°C denaturierenden Einflüssen unterworfen. Danach wurden die hitzedenaturierten Chargen im Wasserbad auf Zimmer temperatur abgekühlt, um den Denaturierungsprozeß abzustoppen (49).

Nach nochmaliger Bestimmung der Gesamtaktivität pro ml, wobei sich die-selben Werte wie oben angeführt ergaben, wurde der prozentuale Anteil des freien nicht eiweißgebundenen Jod-131 bestimmt. Dafür wurden die Protein-lösungen mit 20%iger Trichloressigsäure gefällt; das Verhältnis Eiweißlösung : Trichloressigsäure war 1 : 1. Nach Fällung blieben die Ansätze 15 Minuten bei Zimmertemperatur stehen. Dann wurde nach scharfer Zentrifugation im eiweißfreien Überstand die Aktivität/ml gemessen und nach Verdoppelung des Meßwertes zur Ausgangsaktivität in Beziehung gesetzt. Die freie Aktivität lag beim nativen Albumin bei 3,64% der Gesamtaktivität und war beim dena-turierten bei 3,8%; beim nativen Gammaglobulin betrug die freie Aktivität 6,48%, beim denaturierten 7,8% der Gesamtaktivität.

Zur Prüfung der Präparate auf Verunreinigung mit anderen Plasmaproteinen wurden die vier Chargen (Albumin nativ und denaturiert, Gammaglobulin nativ und denaturiert) einer Horizontalelektrophorese unterworfen (Michaelis-puffer pH 8,6; angelegte Spannung 110 V; Laufzeit 16 Stunden; Anfärbung mit Amidoschwarz 10 B).

Die unscharf begrenzten Banden auf den Elektrophoresestreifen ließen sowohl bei den Albumin- als auch bei den Gammaglobulinchargen geringe Beimengungen anderer Plasmaproteine erkennen. Die Unschärfe der Proteinbanden dürfte im Sinne der Proteindenaturierung während der Eiweißpräparation beziehungsweise Jod-131-Markierung zu interpretieren sein. Die Beimengungen zur Albumincharge stellen wahrscheinlich alpha-Globuline, die zur Gamma-globulincharge beta-Globuline dar. Der Anteil der Verunreinigungen muß mit etwa 10% des Gesamteiweißgehaltes der Präparate veranschlagt werden.

2. VERSUCHSANORDNUNG

Als Versuchstiere dienten weibliche Albinoratten. Die Tiere wurden in Käfigen gehalten und mit Altromin K und Wasser ad libitum ernährt.

Für den Albumin- und Gammaglobulinversuch gelangten jeweils 56 Tiere zur Untersuchung. Beim Albuminversuch hatten die Tiere ein Durchschnittsgewicht von 250 ± 30 g und beim Gammaglobulinversuch 200 ± 30 g.

Den Tieren beider Versuchsgruppen wurde von den Plasmaeiweißfraktionen 4,5 mg Protein pro 100 g Körpergewicht intravenös in eine der Schwanzvenen verabreicht. Von den jeweils 56 Tieren jeder Versuchsreihe wurde einer Hälfte der Tiere natives und der anderen Hälfte denaturiertes Protein injiziert.

Die Laufzeit beider Versuchsreihen betrug 14 Tage. In Abständen von 2 Tagen, also zu sieben Terminen, wurden die Untersuchungen vorgenommen. Zum gewählten Zeitpunkt wurden von jeder Versuchsreihe 8 Tiere untersucht, davon 4, denen natives und 4, denen denaturiertes Plasmaprotein injiziert worden war. Die Tiere wurden mittels Äthernarkose bis zum Stillstand der Atmung betäubt, eröffnet, und zunächst jeweils 5 ccm Blut durch cardiale Punktion gewonnen. In dem durch Zentrifugieren gewonnenem Serum wurde im Szintillationszähler die Radioaktivität von 1 ml/min. bestimmt. An Organen wurde den Tieren Thymus, Herz, Lunge, Milz, Nieren und Leber entnommen. Die Entnahme erfolgte erst nach vollständiger Blutgerinnung. Die Organe wurden in Wassermannröhrchen gebracht und ihre Aktivität pro Minute im Bohrlochkristall gemessen.

Beim Meßvorgang wurde auf Coincidenz und Konstanz der Geometrie der Meßanordnung geachtet. Der physikalische Zerfall des Radionuclids wurde berücksichtigt. Alle Meßwerte wurden auf den Zeitpunkt der intravenösen Verabreichung der Proteinlösungen an die Tiere korrigiert.

Später wurde von je 15 Tieren der in den Versuchsreihen gegebenen Gewichtsklasse das durchschnittliche Frischgewicht der zur Untersuchung gelangten Organe bestimmt und die gemessene Gesamtaktivität der Organe auf die Aktivität pro Gramm Organgewicht umgerechnet (= spezifische Aktivität). Die so erhaltenen Werte der spezifischen Aktivität bildeten die Grundlage der statistischen Versuchsauswertung.

Weitere methodische Einzelheiten, wie etwa die Bestimmung der Gesamtaktivität des Serums zu den einzelnen Untersuchungsterminen oder die Bestimmung der biologischen Halbwertszeit der Testproteine werden bei der Mitteilung der entsprechenden Ergebnisse besprochen.

3. AUSWERTUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

Uns interessierte in der Hauptsache folgendes:

- Bestehen Unterschiede im Stoffwechselverhalten zwischen den nativen und hitzedenaturierten homologen Plasmaproteinen?
- Welchen Anteil haben die einzelnen untersuchten Organe am Umsatz dieser Jod-131 markierten homologen Plasmaproteine?

Zu a) Spezifische Organaktivitäten

Tabelle 1 enthält die Werte der spezifischen Aktivität der beiden untersuchten Proteinchargen (nativ und denaturiert) der Leber im Albuminversuch. Zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten wurden jeweils vier unabhängige Wiederholungen des Versuchs durchgeführt. Die Untersuchungen des nativen und denaturierten Eiweißes mußten natürlich an verschiedenen Tieren durchgeführt werden.

Die vollständige Zusammenstellung der ermittelten spezifischen Aktivitäten für alle untersuchten Organe beider Versuchsgruppen (Albumin und Gamma-globulin) mit den arithmetischen Mittelwerten der Wiederholungen ist aus den Tabellen 2-5 zu ersehen; die Abbildungen 1-14 zeigen die Mittelwertskurven der spezifischen Aktivitäten der getesteten Organe mit der Streuungen dargestellt in einem halblogarithmischen Maßstab für die untersuchten nativen und denaturierten Eiweißchargen beider Versuchsgruppen.

Tabelle 1: Spezifische Aktivitäten für beide untersuchten Proteinchargen (nativ und denaturiert) bestimmt am Organ Leber mit den arithmetischen Mittelwerten ($\bar{x}$) beim Albuminversuch.

	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14. Tg.
nativ	36944	26183	18124	9082	7278	7443	4906
	47221	24532	23813	11728	10049	6509	4981
	41082	24497	12269	11941	8580	5836	4663
	40944	30063	18113	10970	10155	6163	6618
	$\bar{x}$	41548	26319	18080	10940	9016	6488
denat.	38111	21544	12630	14059	9172	8181	4868
	37362	20385	14420	10323	12142	5953	5810
	52018	28070	15837	12130	10930	7887	5362
	41065	20875	16194	11317	11329	7902	5362
	$\bar{x}$	42139	22719	14770	11957	10894	7481

Es handelte sich in unserem Fall um zwei Behandlungsarten (native und denaturierte Eiweißcharge), die an je vier Versuchstieren zu sieben Untersuchungszeitpunkten getestet wurden. Zunächst interessiert das unterschiedliche Verhalten der beiden Eiweißkörper innerhalb der einzelnen Organe. Zum Vergleich der Mittelwerte der spezifischen Aktivitäten beider Eiweißarten zu den sieben Untersuchungszeitpunkten wurde (innerhalb der Organe) eine doppelte Varianzanalyse (mit Wiederholungen) vorgenommen.

Da die zahlenmäßigen Ergebnisse der Untersuchungswiederholungen linksasymmetrische Verteilungen aufweisen, wurden die Meßwerte der spezifischen Aktivitäten (Imp. /Min.) in dekadische Logarithmen transferiert, um symmetrische Normalverteilungen zu erhalten und damit eine weitere Voraussetzung für die Varianzanalyse zu erfüllen.

Die zu untersuchenden Faktoren Eiweißart, Zeitpunkte sind durch die Versuchsbedingungen festgelegt und unterliegen praktisch keinen Zufallsschwankungen (7 Untersuchungszeitpunkte mit jeweils 4 unabhängigen Wiederholungen des Versuchs; native und denaturierte Plasmaproteinchargen); es handelte sich also um ein fixes Modell (fixed model). Die Berechnung der Varianzanalyse wurde in Anlehnung an OSTLE durchgeführt (69).

Tabelle 2:

Spezifische Aktivitäten mit Mittelwerten ($\bar{x}$) der untersuchten Organe für das native Jod-131 markierte homologe Albumin zu den festgelegten Untersuchungs-terminen.

Tag der Unters.	Serum	Thymus	Herz	Lunge	Milz	Nieren	Leber
2.	394460	55202	38267	62284	42000	58167	36944
	249100	68360	30036	47480	75419	64713	47221
	300040	51810	31613	59197	51955	55800	41082
	310660	41721	28538	50499	46248	61359	40944
2. $\bar{x}$	313565	54273	32114	54865	53906	60010	41548
4.	203920	25377	16248	34232	24587	34608	26183
	177200	22971	13826	36666	26953	34117	24532
	175630	19585	16885	25223	27780	33951	24497
	158510	24936	16632	31264	23279	35367	30063
4. $\bar{x}$	178815	23217	15898	31846	25650	34511	26319
6.	106940	13199	10504	20879	20762	22557	18124
	99170	14378	10784	19122	15728	23367	23813
	58400	10820	7290	12330	14829	14595	12269
	105350	22157	10677	21974	23056	21941	18113
6. $\bar{x}$	92465	15139	9814	18576	18594	20615	18080
8.	46030	10089	4986	9191	13073	11361	9082
	55730	12220	7140	11695	13149	14733	11728
	47330	11027	7198	15256	14347	15861	11941
	59810	9903	5117	9476	15366	11343	10970
8. $\bar{x}$	52225	10810	6110	11405	13984	13325	10930

Fortsetzung Tabelle 2:

Tag der Unters.	Serum	Thymus	Herz	Lunge	Milz	Nieren	Leber
10.	28640	6248	4008	7502	7931	8757	7278
	34390	4455	3760	8119	7681	10660	10049
	32140	7075	3519	6586	8533	8548	8580
	25420	4662	3205	5631	9873	9704	10155
10. $\bar{x}$	30148	5610	3623	6960	8505	9417	9016
12.	19640	4496	2516	4732	8901	7524	7443
	28210	4551	2865	5607	8795	6569	6509
	17730	3855	2125	4662	8186	6305	5836
	31700	3951	3359	5285	7218	7252	6163
12. $\bar{x}$	24320	4213	2716	5072	8275	6913	6488
14.	16460	3200	2005	3504	5655	5506	4906
	15790	3407	2265	4078	6843	5198	4981
	14750	2738	2044	3159	5504	6404	4663
	17860	2738	1852	3045	6444	5364	6618
14. $\bar{x}$	16215	3021	2042	3447	6112	5618	5292

Tabelle 3:

Spezifische Aktivitäten mit Mittelwerten ($\bar{x}$) der untersuchten Organe für das denaturierte Jod-131 markierte homologe Albumin zu den festgelegten Untersuchungsterminen.

Tag der Unters.	Serum	Thymus	Herz	Lunge	Milz	Nieren	Leber
2.	254790	46831	28751	45620	45698	53144	38111
	257180	43203	26491	47920	52359	51513	37362
	252300	50961	25469	51622	53886	63999	52018
	272990	43886	29536	59400	47114	56736	41065
2. $\bar{x}$	259315	46220	27562	51141	49764	56348	42139

Tag der Unters.	Serum	Thymus	Herz	Lunge	Milz	Nieren	Leber
4.	130530	23467	15662	24133	21382	30276	21544
	110300	15950	11598	21436	18679	27442	20385
	185550	20991	19916	21335	30839	40711	28070
	110230	21778	12499	19100	21267	27372	20875
4. $\bar{x}$	134153	20547	14919	21501	23042	31450	22719
6.	50820	8689	5703	13518	13458	14336	12630
	65920	7675	7720	14631	15833	18677	14420
	64740	9282	7621	15061	14292	19055	15837
	79440	12647	8491	12973	15519	20783	16194
6. $\bar{x}$	65230	9573	7384	14046	14776	18213	14770
8.	40950	9992	5518	9799	10333	14669	14059
	29110	6868	4942	6837	12294	9915	10323
	38370	10337	4706	7772	8605	11209	12130
	37170	7441	4633	8520	10708	11689	11317
8. $\bar{x}$	36400	8660	4950	8232	10485	11871	11957
10.	26420	6262	2985	5081	11758	9400	9172
	30630	6848	3478	5868	8994	11333	12142
	27980	6489	3700	5169	9554	8535	10930
	34740	7551	4352	6502	8875	11076	11329
10. $\bar{x}$	29943	6788	3629	5655	9795	10086	10894
12.	15620	4227	2277	3868	7289	7225	8181
	15510	3414	2061	4711	5701	5468	5953
	16890	3414	2251	3755	5935	7513	7887
	22620	4538	3003	4481	8076	8586	7902
12. $\bar{x}$	17660	3898	2398	4204	6750	7198	7481

Fortsetzung Tabelle 3:

Tag der Unters.	Serum	Thymus	Herz	Lunge	Milz	Nieren	Leber
14.	6540	2186	1194	2163	4792	5023	4868
	9410	2648	1496	2660	5998	4695	5810
	12250	4303	2069	4188	7157	6876	8704
	12050	3427	1677	2596	5881	5093	5362
14. $\bar{x}$	10063	3141	1609	2902	5957	5422	6186

Tabelle 4:

Spezifische Aktivitäten mit Mittelwerten ($\bar{x}$) der untersuchten Organe für das native Jod-131 markierte homologe Gammaglobulin zu den festgelegten Untersuchungsterminen.

Tag der Unters.	Serum	Thymus	Herz	Lunge	Milz	Nieren	Leber
2.	280990	21438	36324	95656	11749	54860	41540
	373720	19573	37026	80239	13537	59166	36237
	363950	15399	32961	95154	14005	62381	37683
	316490	14054	30904	91227	16602	49663	30886
2. $\bar{x}$	333788	17616	34304	90569	13973	56518	36587
4.	261220	12197	24262	64517	7539	45181	26483
	212950	9617	22770	52505	7266	47335	28292
	176110	7995	20451	44722	7918	37935	21439
	210510	11728	21503	43068	6341	36760	26760
4. $\bar{x}$	215198	10384	22247	51203	7266	41803	25744
6.	117740	8570	11543	34504	4316	29917	18006
	140060	10622	18206	41595	5462	31312	22144
	105540	5078	9956	30525	4176	23067	12015
	122350	8236	14031	27035	5526	26915	17338
6. $\bar{x}$	121423	8127	13434	33415	4870	27803	17376

Tag der Unters.	Serum	Thymus	Herz	Lunge	Milz	Nieren	Leber
8.	63040	4673	7436	19579	2886	18429	12848
	139190	10340	16803	29709	4948	29386	19729
	110240	5744	11770	23610	4112	22958	15847
	64750	4689	7310	15236	2918	16923	14440
8. $\bar{x}$	94305	6382	10830	22034	3716	21924	15716
10.	53190	3038	6823	14931	2427	15739	9693
	46420	3446	5420	11389	2507	13204	11807
	43590	3103	5062	12565	1624	14143	14620
	68850	4177	6746	14781	2485	16261	13253
10. $\bar{x}$	53013	3441	6013	13417	2261	14837	12343
12.	18120	1854	2656	11298	1400	7148	4020
	32510	2087	3479	8448	1285	9987	6411
	56120	4094	7281	11762	2008	15646	11825
	31280	2840	4422	9820	1410	9804	9424
12. $\bar{x}$	34508	2719	4460	10332	1526	10646	7920
14.	41830	1884	5636	10498	1858	12073	8370
	24870	1884	3759	10854	1372	9623	6527
	30510	2202	3607	8729	1207	8680	8078
	32390	1994	4334	10359	1479	10128	7657
14. $\bar{x}$	32400	1991	4334	10110	1479	10126	7658

Tabelle 5:

Spezifische Aktivitäten mit Mittelwerten ($\bar{x}$) der untersuchten Organe für das denaturierte Jod-131 markierte homologe Gammaglobulin zu den festgelegten Untersuchungsterminen.

Tag der Unters.	Serum	Thymus	Herz	Lunge	Milz	Nieren	Leber
2.	109730	6004	11635	24309	7121	25938	15987
	98730	7083	9474	34516	10111	25354	15975
	90910	5166	10253	35965	7087	25241	15731
	94130	6302	11850	23958	9622	25464	22748
2. $\bar{x}$	98375	6139	10803	29687	8485	25499	17610
4.	67970	4604	8970	14884	3404	21537	13773
	55200	5226	6129	15869	5018	13626	11803
	63590	5451	7127	13874	3700	17032	13318
	59460	4344	7273	13627	3345	20200	15578
4. $\bar{x}$	61555	4906	7375	14564	3867	18099	13618
6.	42590	2643	5507	10414	2907	13210	9699
	28530	2892	3702	13584	1993	11569	9882
	46110	2547	6118	10740	2764	14887	11948
	38730	2772	5112	14256	2311	12792	10085
6. $\bar{x}$	38990	2714	5110	12249	2494	13115	10404
8.	25010	1728	2993	7044	1332	9526	6627
	30320	2829	4366	11199	1728	13871	10364
	36550	2728	4670	8241	1652	12451	10178
	34360	3136	5319	12239	2165	14234	11872
8. $\bar{x}$	31560	2605	4337	9681	1719	12521	9760

Tag der Unters.	Serum	Thymus	Herz	Lunge	Milz	Nieren	Leber
10.	30390	1789	4172	10360	1379	12963	11632
	23820	2553	3791	8392	1506	10407	9264
	21450	2325	3194	6612	1419	9931	8052
	22630	1361	3254	7120	1142	8226	10897
10. $\bar{x}$	24573	2007	3603	8121	1362	10382	9961
12.	18520	1871	2464	7171	1072	8393	9297
	14130	1046	2011	4461	1040	7789	6728
	20740	1531	2466	4750	1118	7581	9889
	21360	2178	2683	5724	1131	8600	9817
12. $\bar{x}$	18688	1657	2406	5527	1090	8091	8933
14.	14320	1490	2449	5895	1149	8733	7804
	12720	1389	2144	6356	1193	6349	5230
	16160	1471	2148	6589	789	6516	5137
	12450	978	1940	7149	1009	6365	6389
14. $\bar{x}$	13913	1332	2170	6497	1035	6991	6140

Halbwertszeit

Während man mittels der Varianzanalyse eventuelle Unterschiede im Stoffwechselerverhalten zwischen den nativen und denaturierten Proteinchargen feststellen kann, zu denen im folgenden Kapitel Stellung genommen wird, hat sich die Halbwertszeit als zusammenfassendes Maß für die "Lebensdauer" eines Proteins in vivo bewährt. Die Halbwertszeit wird an Hand der aus dem Serum ermittelten mittleren spezifischen Aktivitäten zu den einzelnen Untersuchungsterminen nach deren graphischer Darstellung in einem halblogarithmischen Maßstab zeichnerisch bestimmt. Der Verlauf dieser in Beziehung zur Zeit aufgetragenen Aktivitätskurve ist von mehreren Faktoren abhängig:

1. Verteilung des markierten Plasmaeiweißes im extrazellulären Raum; diese Komponente fällt besonders in den ersten Tagen post injectionem ins Gewicht.
2. Aufnahme des etikettierten Proteins in die Zellen.

3. Abbaugeschwindigkeit des Testeiweißes in den einzelnen Organen.
4. Eine eventuelle Ausscheidung des markierten Proteins durch Nieren und Intestinaltrakt.

Eine exakte Analyse würde das genaue Bekanntsein der einzelnen Faktoren im Verlaufe des Untersuchungszeitraumes voraussetzen. Meßergebnisse konnten hierzu nur unvollständig erbracht werden. Immerhin gestatten die gewonnenen Untersuchungsergebnisse eine globale Betrachtung der Kurve des Aktivitätsabfalls der geprüften Proteine während der Versuchsdauer.

Die Analyse wurde dadurch vereinfacht, daß die Kurve in einem semilogarithmischen Maßstab einen annähernd linearen Verlauf nimmt. Um einen völlig linearen Verlauf zu erhalten, wurden die Regressionsgleichungen berechnet. Die Art und Weise der Berechnung der Regressionsgleichungen ist aus Tabelle 6 für das native Jod-131 markierte Albumin zu entnehmen.

Da nur die y-Werte (spezifische Aktivitäten) variabel sind, während die x-Werte (Untersuchungszeitpunkte) festliegen, benötigten wir für unseren Zweck nur die Regressionsgeraden y_R .

Die Regressionsgleichungen der restlichen untersuchten homologen Plasmaproteine für das Serum haben folgendes Aussehen:

1. $y_R = -0,1134x + 5,5647$ für das denaturierte Albumin
2. $y_R = -0,0833x + 5,6905$ für das native Gammaglobulin
3. $y_R = -0,0677x + 5,0633$ für das denaturierte Gammaglobulin.

Zur Berechnung der Halbwertszeiten wurde von dem durch Extrapolation der Regressionsgeraden gewonnenen Aktivitätswert auf die Ordinate die Hälfte genommen, und von diesem Punkte aus eine Parallele zur Abszisse bis zum Schnittpunkt mit der betreffenden Regressionsgeraden gezogen; von diesem Schnittpunkt wurde das Lot auf die Abszisse gefällt und hier der sich ergebende Wert für die Halbwertszeit abgelesen (Abb. 15 und 16). Der durch die Extrapolation der Regressionsgeraden bestimmte Aktivitätswert auf der Ordinate läßt sich außerdem errechnen, indem man in den Regressionsgleichungen x gleich Null setzt und von dem für y_R erhaltenen Zahlenwert den Numerus nimmt.

Abb. 1

Mittelwertskurve der spezifischen Aktivität($\bar{x}$)des Jod-131 markierten Albumins in einem halblogarithmischen System für das Serum.

- a) — Mittelwertskurve der nativen Eiweißcharge mit den Streuungen(*).
 b) - - - Mittelwertskurve der denaturierten Eiweißcharge mit den Streuungen(•).

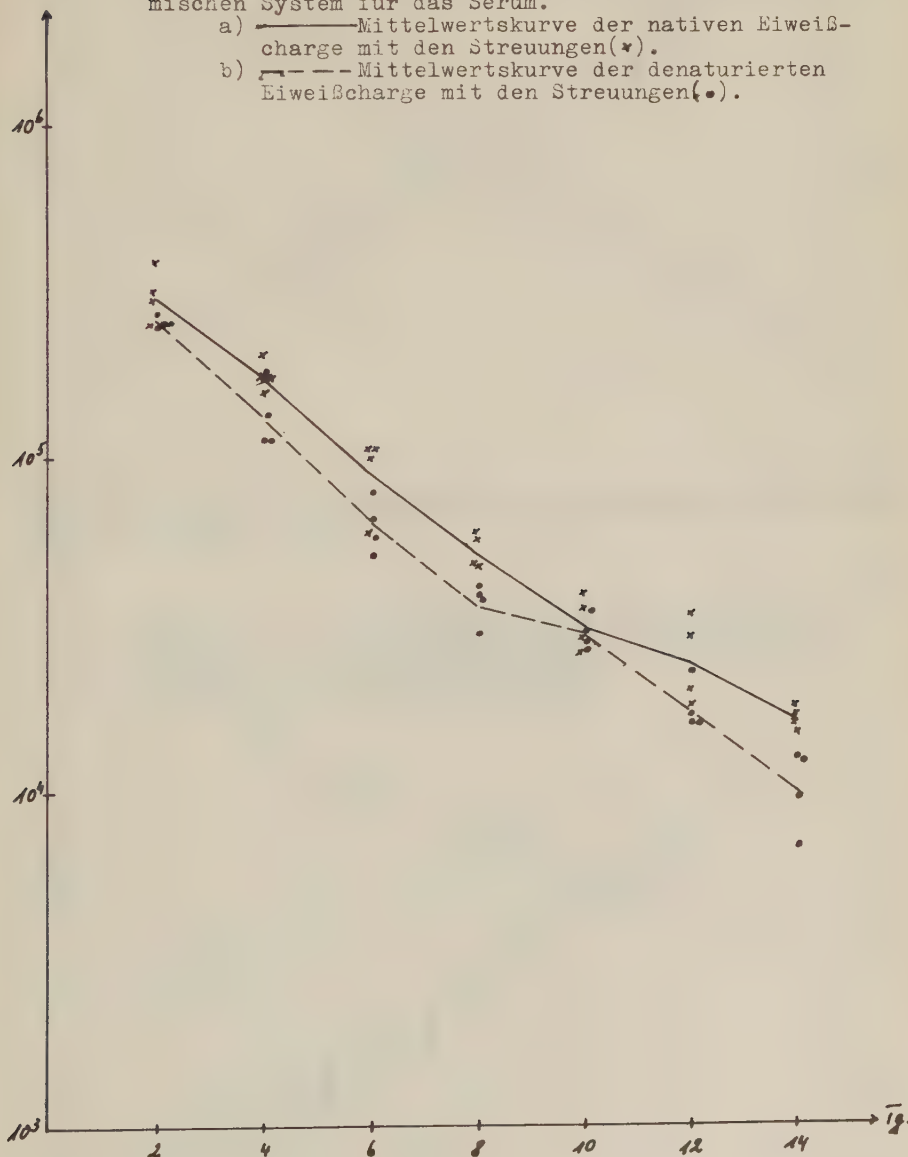


Abb. 2

Mittelwertskurve der spezifischen Aktivität des Jod-131 markierten Albumins für das Organ Thymus mit den Streuungen.

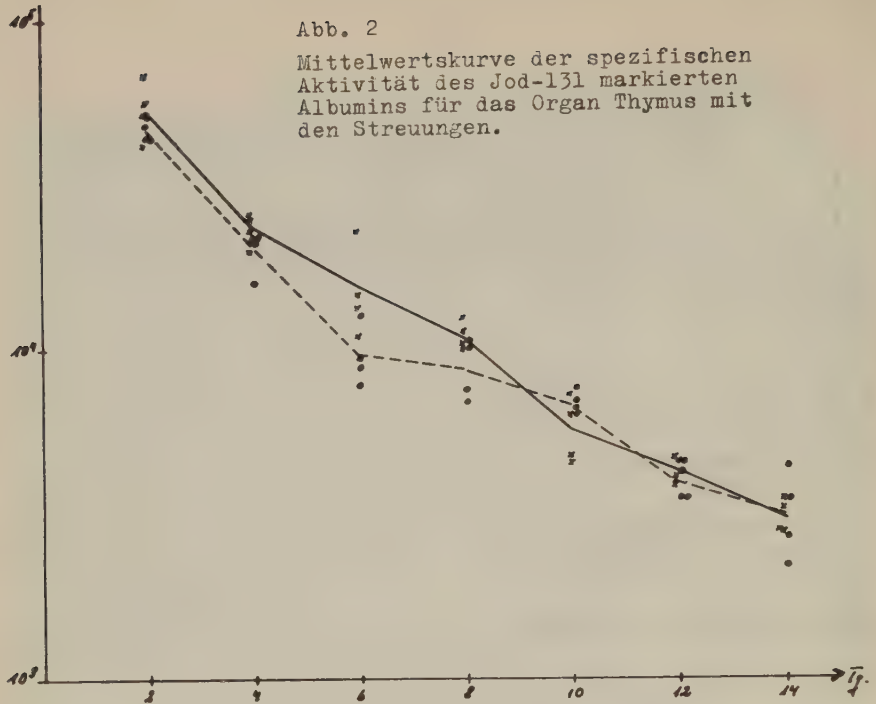


Abb. 3

Mittelwertskurve der spezifischen Aktivität des Jod-131 markierten Albumins für das Organ Herz mit den Streuungen.

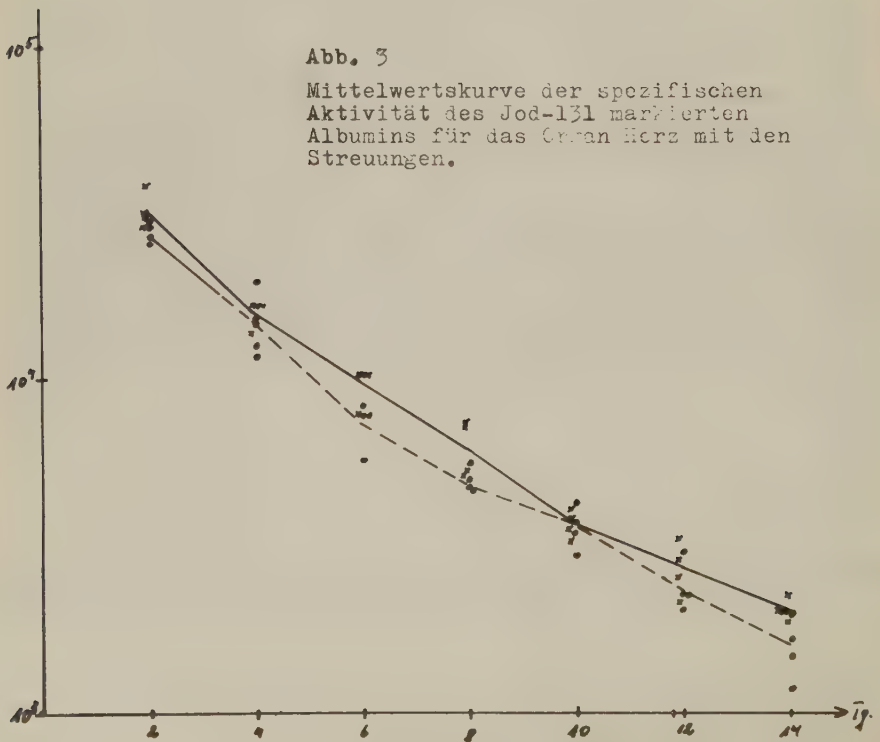


Abb. 4

Mittelwertskurve der spezifischen Aktivität des Jod-131 markierten Albumins für das Organ Lunge mit den Streuungen.

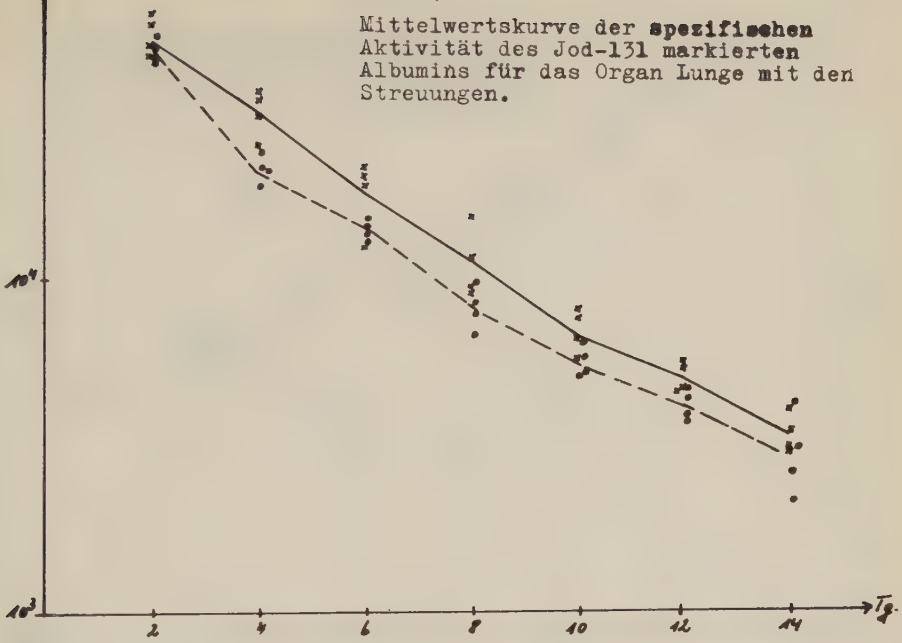
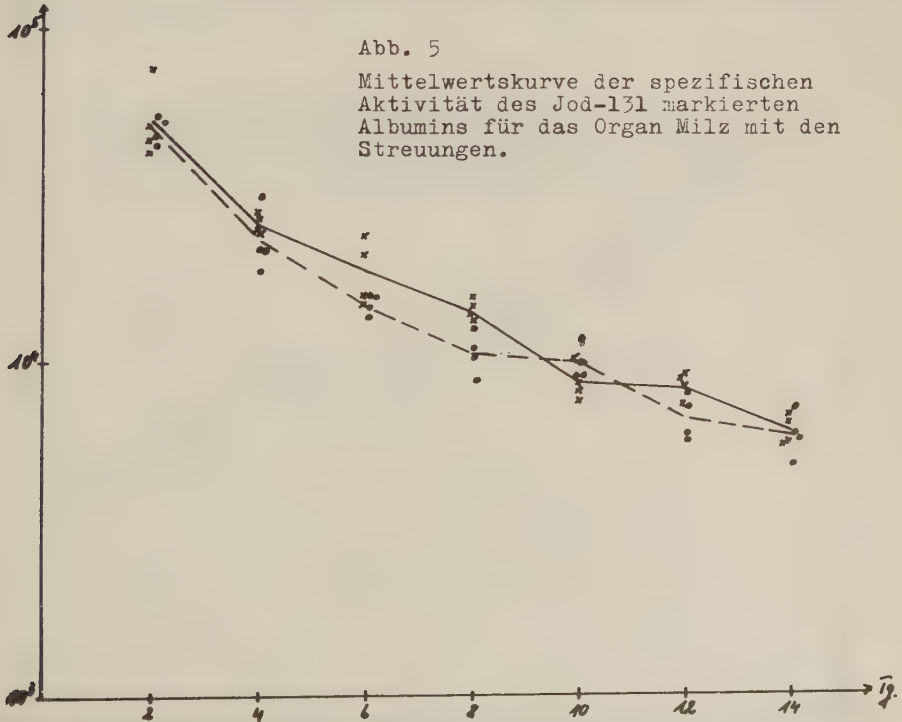


Abb. 5

Mittelwertskurve der spezifischen Aktivität des Jod-131 markierten Albumins für das Organ Milz mit den Streuungen.



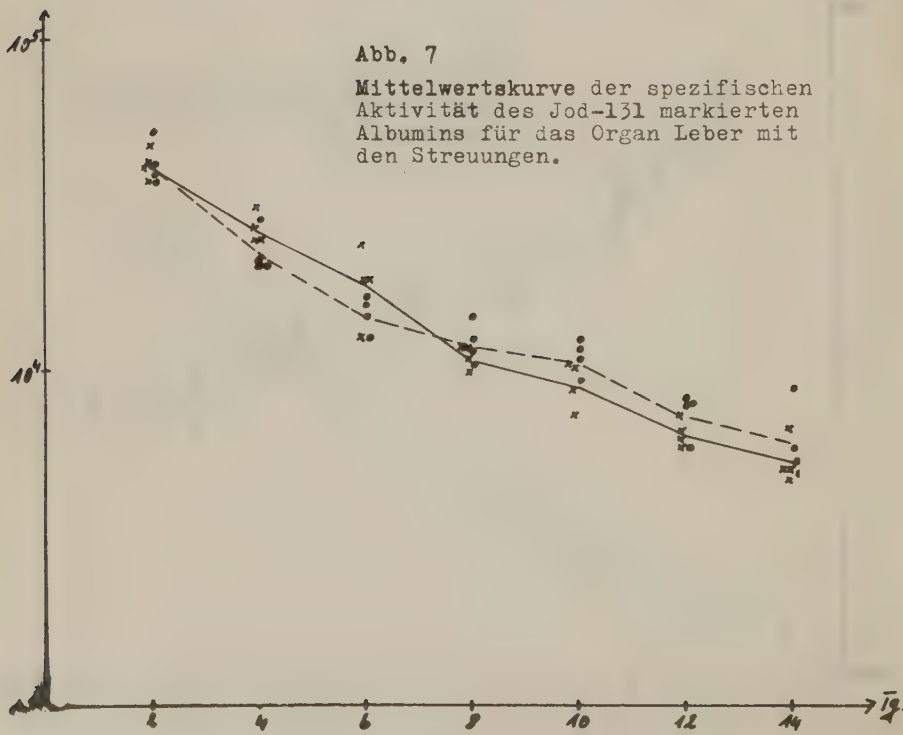
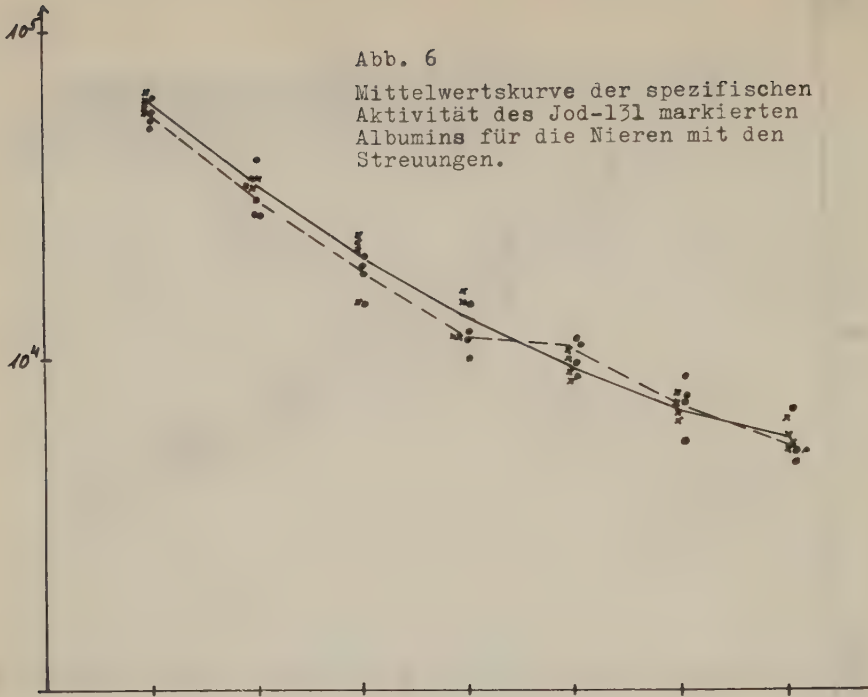


Abb. 8

Mittelwertskurve der spezifischen Aktivität des Jod-131 markierten Gammaglobulins für das Serum mit den Streuungen.

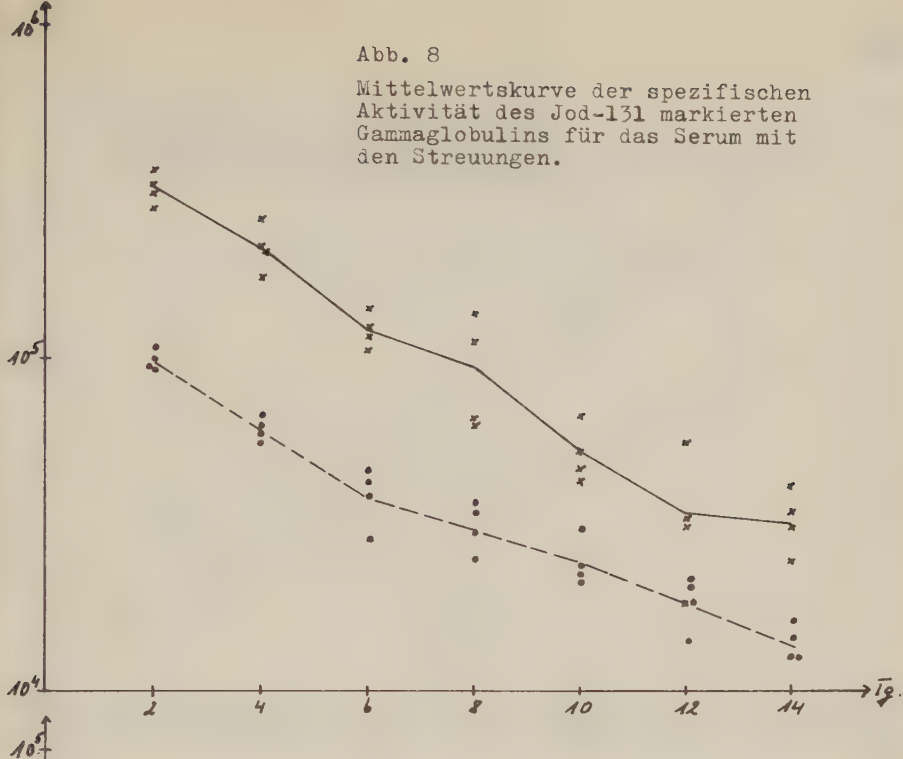


Abb. 9

Mittelwertskurve der spezifischen Aktivität des Jod-131 markierten Gammaglobulins für das Organ Thymus mit den Streuungen.

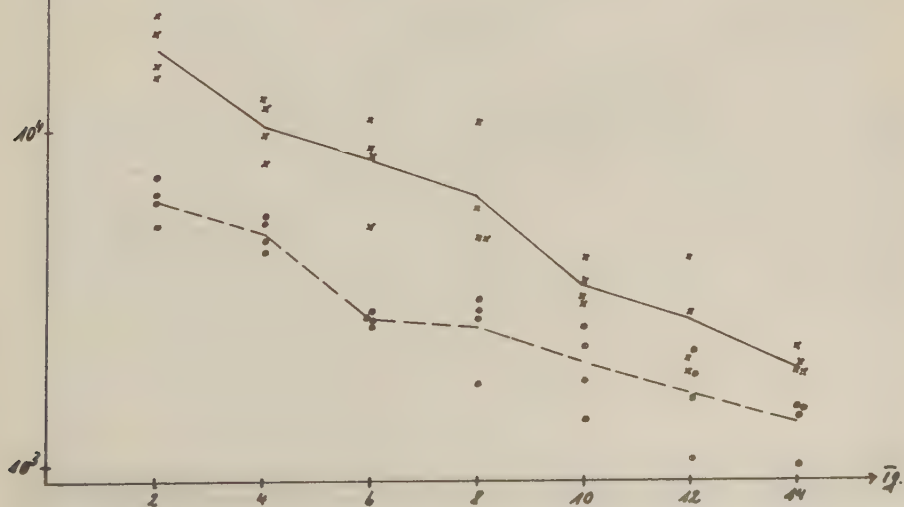


Abb. 10

Mittelwertskurve der spezifischen Aktivität des Jod-131 markierten Gammaglobulins für das Organ Herz mit den Streuungen.

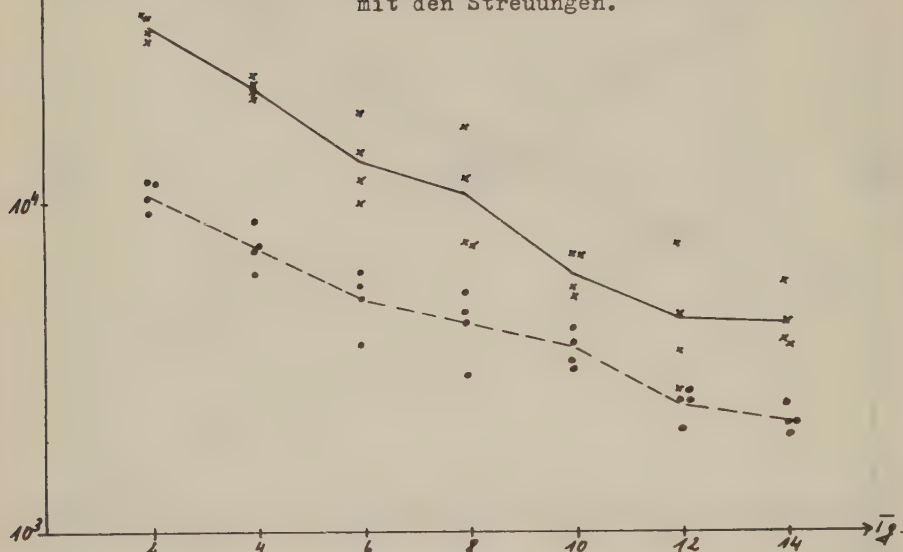


Abb. 11

Mittelwertskurve der spezifischen Aktivität des Jod-131 markierten Gammaglobulins für das Organ Lunge mit den Streuungen.

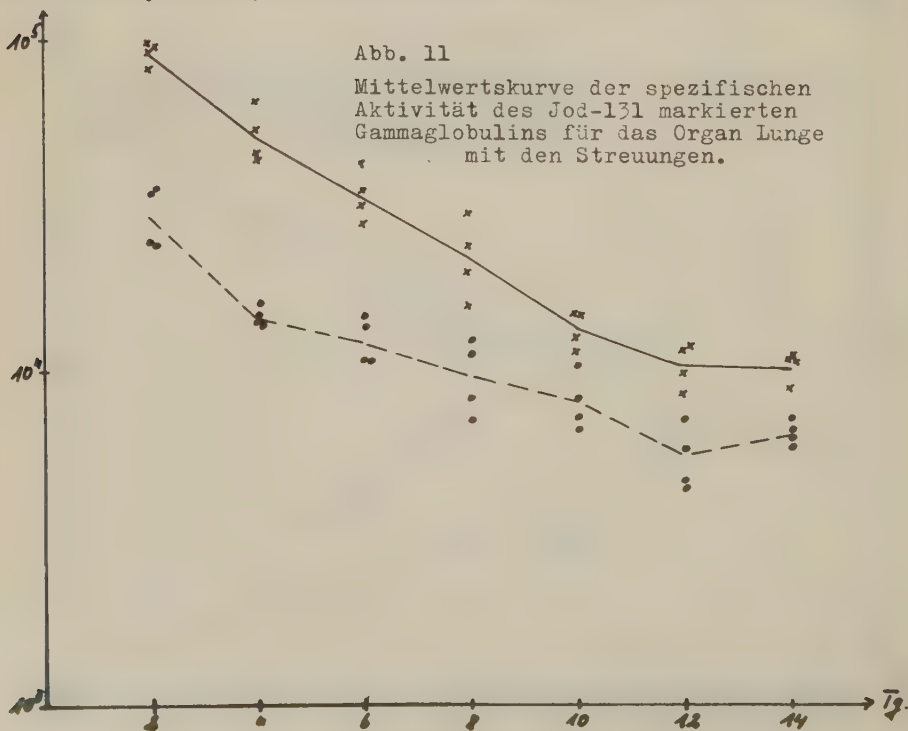


Abb. 12

Mittelwertskurve der spezifischen Aktivität des Jod-131 markierten Gammaglobulins für das Organ Milz mit den Streuungen.

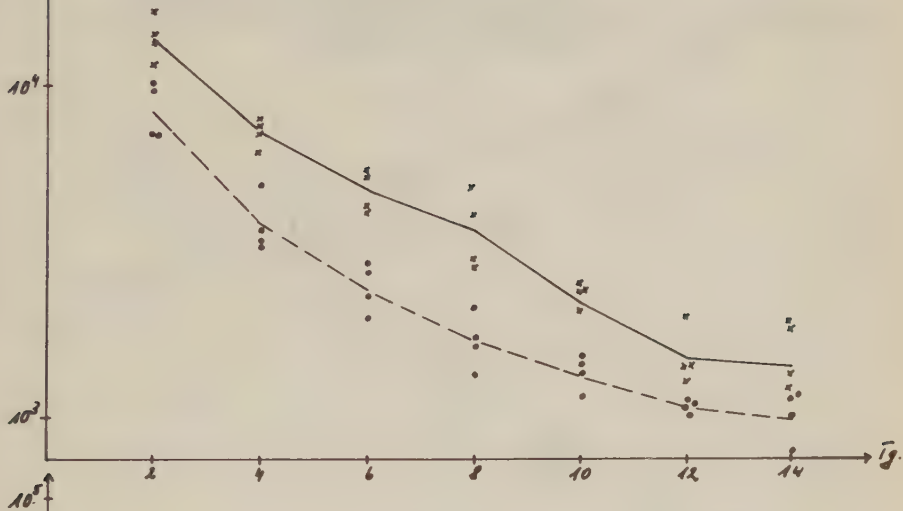


Abb. 13

Mittelwertskurve der spezifischen Aktivität des Jod-131 markierten Gammaglobulins für die Nieren mit den Streuungen.

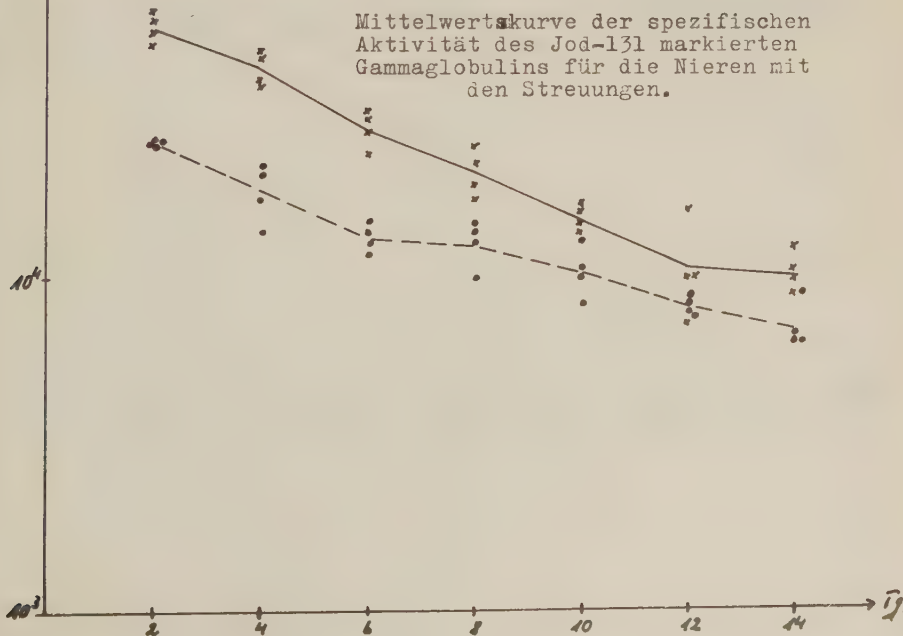


Abb. 14

Mittelwertskurve der spezifischen
Aktivität des Jod-131 markierten
Gammaglobulins für das Organ Leber
mit den Streuungen.

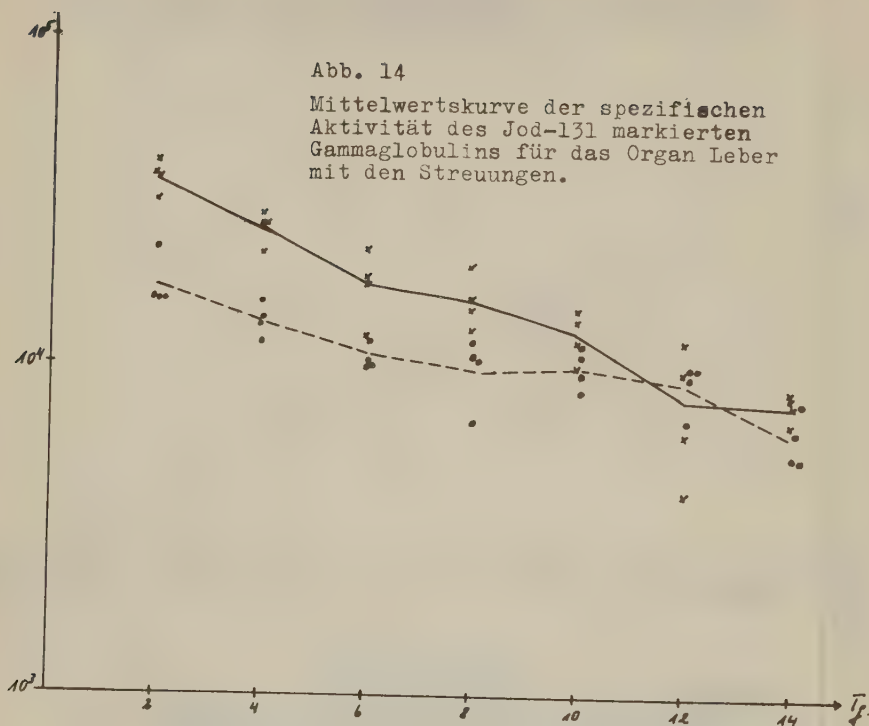


Abb. 15

Zeichnerische Ermittlung der Halbwertszeiten des
nativen und denaturierten Jod-131 markierten
homologen Albumins.

- a) ————— Regressionsgerade y_R des nativen
Albumins.
b) - - - - - Regressionsgerade y_R des denaturierten
Albumins.

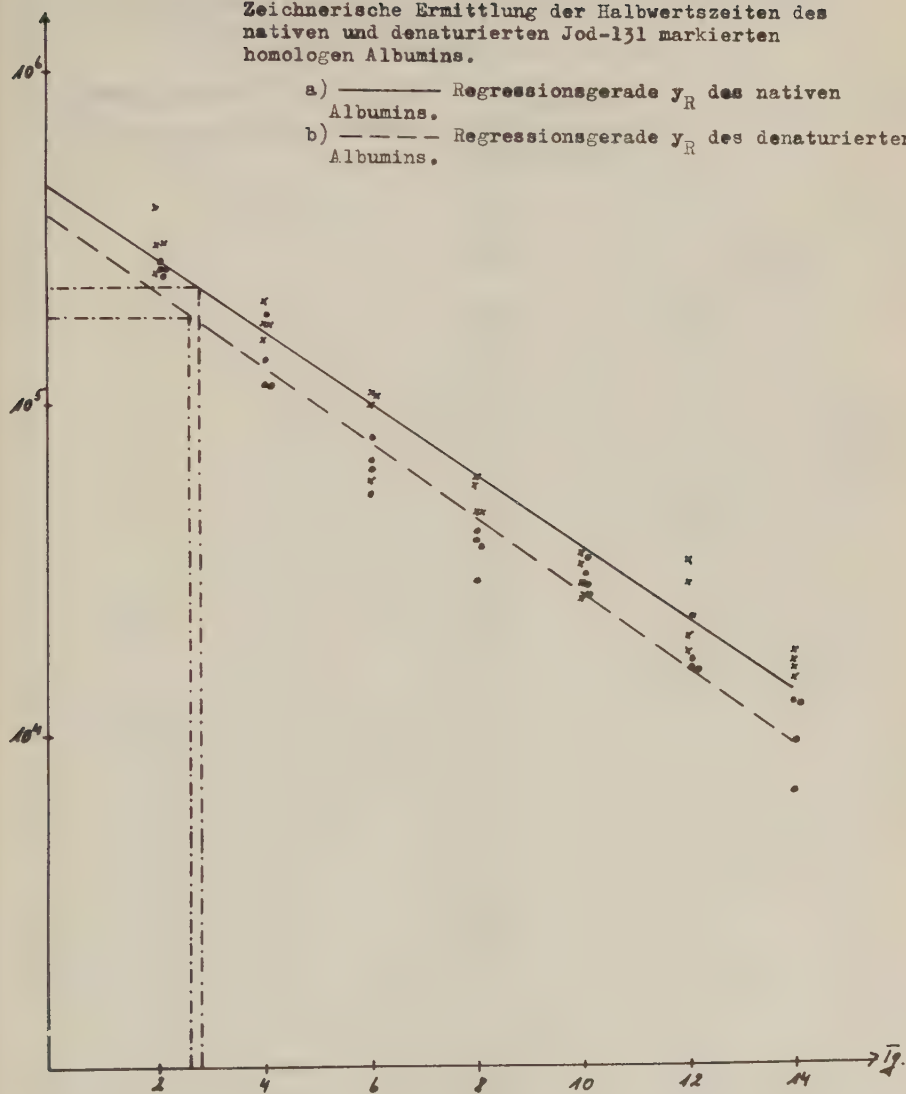


Abb. 16

Zeichnerische Ermittlung der Halbwertszeiten des nativen und denaturierten Jod-131 markierten homologen Gammaglobulins.

- a) ——— Regressionsgerade y_R des nativen Gammaglobulins.
 b) - - - Regressionsgerade y_R des denaturierten Gammaglobulins.

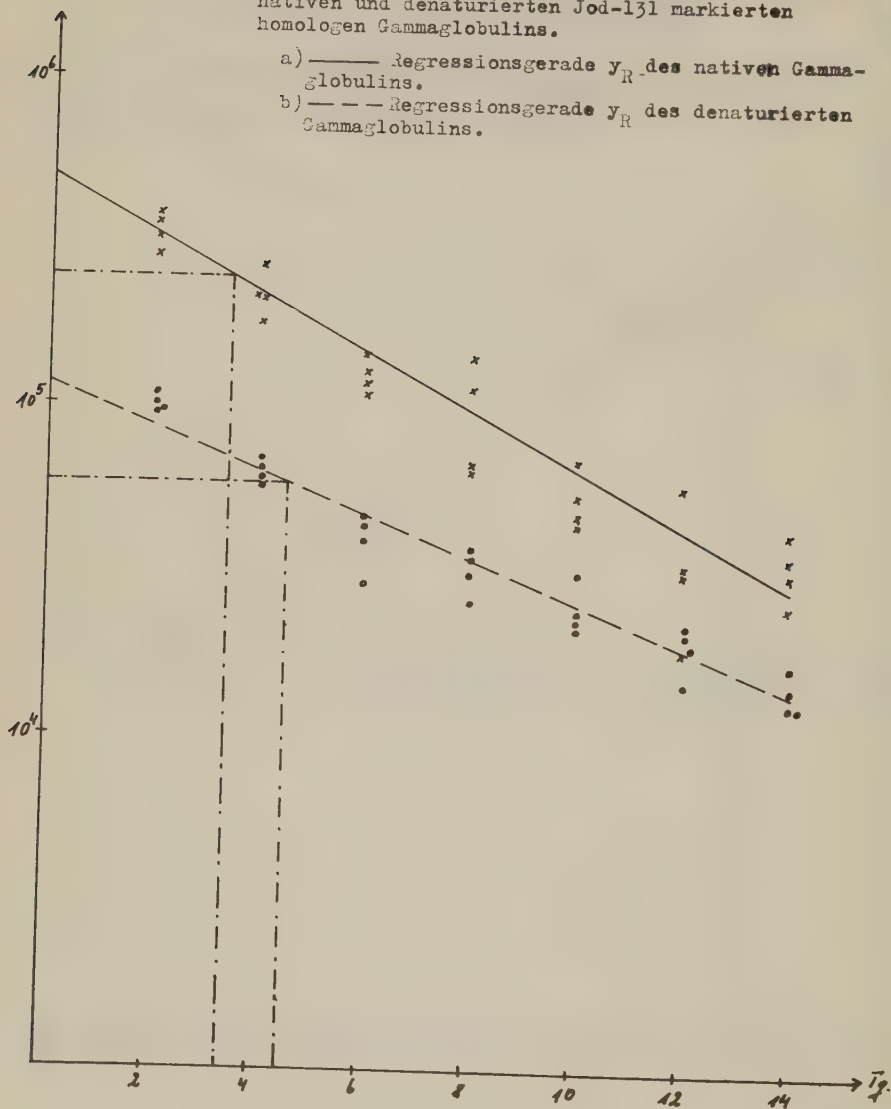


Tabelle 6:

Schema der Berechnung der Regressionsgleichungen y_R des Serums für das native Jod-131 markierte native Albumin.

Wiederholungen	Wert x	Wert y	
1.	2	5,5960	$n = 28$
2.	2	5,3964	
3.	2	5,4772	
4.	2	5,4923	
1.	4	5,3095	$b = \frac{S_{xy}}{S_{xx}} = -0,1088$
2.	4	5,2785	
3.	4	5,2446	
4.	4	5,2001	
1.	6	5,0291	$a = \bar{y} - b\bar{x} = 5,6529$
2.	6	4,9960	
3.	6	4,7738	
4.	6	5,0226	
1.	8	4,6631	$y_R = bx + a$ $= -0,1088x + 5,6529$ =====
2.	8	4,7461	
3.	8	4,6752	
4.	8	4,7768	
1.	10	4,4570	$n = \text{Anzahl der untersuchten Tiere}$
2.	10	4,5365	
3.	10	4,5071	
4.	10	4,4051	
1.	12	4,2932	$b = \text{Regressionskoeffizient}$
2.	12	4,4504	
3.	12	4,2487	
4.	12	4,5011	
1.	14	4,2164	$a = \text{Konstante (Abschnitt auf der y-Achse)}$
2.	14	4,1974	
3.	14	4,1688	
4.	14	4,2519	

Fortsetzung Tabelle 6:

1	$\sum x$	224	1	$\sum y$	133,9109		
2	$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$	8	2	$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$	4,7825		
3	$\sum x^2$	2240	3	$\sum y^2$	645,9807	1	$\sum xy$ 1022,5340
4	$\frac{(\sum x^2)}{n}$	1792	4	$\frac{(\sum y^2)}{n}$	640,4331	2	$\frac{\sum x \sum y}{n}$ 1071,2872
5	$S_{xx} = 3-4$	448	5	$S_{yy} = 3-4$	5,5476	3	$S_{xy} = 1-2$ -48,7532

Wert x = Untersuchungstage

Wert y = bestimmte spezifische Aktivitäten als dekadische Logarithmen

S_{xx} und S_{yy} = Summe der Abweichungsquadrate bei x bzw. y

S_{xy} = Summe der Abweichungsprodukte

Zu b) Relative Aktivitäten

Um zum Anteil der einzelnen untersuchten Organe am Umsatz der Plasma-proteine Stellung nehmen zu können, wurden die zu jedem Untersuchungs-termin an jeweils vier Tieren ermittelten durchschnittlichen Gesamtaktivitäten von Serum, Thymus, Herz, Lunge, Milz, Nieren und Leber addiert und die Summe der Impulse pro Minute gleich 100% gesetzt. Unter der Annahme, daß das Gesamtvolumen des Blutes 1/20 des Körpergewichts der Ratte (37) und der durchschnittliche Hämatokritwert der ausgewachsenen Ratte 50% be-trägt (22), ließ sich aus dem Körpergewicht der Tiere und durch weitere Mul-tiplikation mit den jeweils gemessenen Impulsaktivitäten in 1 ml Serum die Ges- serumaktivität berechnen. Als solche konnte sie in das Spektrum der rela- tiven Organaktivitäten mit einbezogen werden. Letztere wurden für jeden Un- tersuchungstermin als prozentualer Anteil der Organaktivitäten an der mit 100% bestimmten Gesamtaktivität aller untersuchten Organe unter Einschluß der Gesamtaktivität des Serums errechnet (Tab. 9 und 10).

III. ERGEBNISSE

Spezifische Organaktivitäten

Die Ergebnisse der statistischen Berechnungen sind für die untersuchten Organe beider Versuchsreihen in den Tabellen 7 und 8 zusammengestellt. In den Bereich der Betrachtungen wurden folgende Kriterien einbezogen:

1. Eventuelle Unterschiede im Stoffwechselverhalten der nativen und denaturierten Eiweißchargen über den gesamten Untersuchungszeitraum (A) betrachtet:

- a) Beim Albuminversuch waren signifikante Unterschiede zwischen den mittleren spezifischen Aktivitäten der nativen und denaturierten Eiweißchargen an den Organen Herz und Lunge sowie im Serum mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 0,1\%$ aufzuzeigen, während an den Organen Milz und Thymus Unterschiede mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 1\%$ bzw. $P < 5\%$ nachweisbar waren. Keine statistisch gesicherten Unterschiede im Stoffwechselverhalten beider Chargen ließen sich an Nieren und Leber zeigen.

Dabei lagen die Mittelwertskurven der spezifischen Aktivität mit der Zeit als Abszisse bei der nativen Charge fast stets über jener der denaturierten (s. Abb. 1-7). Die bei den je vier Wiederholungen des Versuchs zu den einzelnen Untersuchungsterminen gemessenen Aktivitätswerte, die als Streuungen bei den Mittelwertskurven eingetragen wurden (Abb. 1-7), zeigen teilweise bei beiden Chargen zu gewissen Untersuchungszeitpunkten Überlappungen, so daß zwischen einzelnen Meßwerten der Aktivität für natives und denaturiertes Albumin keine Unterschiede bestehen. Erst die Versuchswiederholungen zu den verschiedenen Untersuchungsterminen ergeben im Gesamtniveau bei einigen Organen signifikante Unterschiede der spezifischen Aktivität zwischen den getesteten nativen und denaturierten Albuminchargen.

- b) Hochsignifikante Unterschiede ($P < 0,1\%$) zwischen den spezifischen Aktivitäten der nativen und denaturierten Proteinchargen ergaben sich beim Gammaglobulinversuch für alle Organe. - Dabei liegen die Mittelwertskurven des Aktivitätsabfalls für das native Gammaglobulin stets deutlich über jene des denaturierten (Abb. 8-14).

2. Unterschiede der spezifischen Aktivitäten zu den einzelnen Untersuchungsterminen (B):

Infolge des deutlichen kontinuierlichen Abfalls der spezifischen Aktivität mit der Zeit ließen sich bei beiden Versuchsreihen für alle Organe und das Serum erwartungsgemäß hochsignifikante Unterschiede ($P > 0,1\%$) zwischen den Aktivitätswerten zu den einzelnen Untersuchungsterminen zeigen.

3. Wechselwirkung (AB):

Die Wechselwirkung weist auf ein unterschiedliches Verhalten der nativen und denaturierten Eiweißchargen an verschiedenen Tagen des Untersuchungszeitraumes hin.

Tabelle 7:

Zusammenstellung der Ergebnisse der doppelten Varianzanalysen mit Wiederholungen für den Albuminversuch

Organ	Variationsursache	f	SAQ	MAQ	F	signifik. bei P
SERUM	Eiweißchargen (A)	1	0,2189	0,2189	32,6716	$< 0,1\%$
	Zeitpunkte (B)	6	11,2216	1,8703	279,1493	$< 0,1\%$
	Wechselwirkung AB	6	0,0562	0,0094	1,4030	n. s.
	Restvarianz	42	0,2807	0,0067	- - -	
	Insgesamt	55	11,7774	- - -		
THYMUS	Eiweißchargen (A)	1	0,0356	0,0356	5,7419	$< 5\%$
	Zeitpunkte (B)	6	8,5877	1,4312	230,8387	$< 0,1\%$
	Wechselwirkung AB	6	0,0912	0,0152	2,4516	$< 5\%$
	Restvarianz	42	0,2623	0,0062	- - -	
	Insgesamt	55	8,9768	- - -		
HERZ	Eiweißchargen (A)	1	0,0641	0,0641	13,3541	$< 0,1\%$
	Zeitpunkte (B)	6	9,0622	1,5103	314,6458	$< 0,1\%$
	Wechselwirkung AB	6	0,0217	0,0036	0,7500	n. s.
	Restvarianz	42	0,2036	0,0048	- - -	
	Insgesamt	55	9,3516	- - -		

Organ	Variationsursache	f	SAQ	MAQ	F	signifik. bei P
LUNGE	Eiweißchargen (A)	1	0,1407	0,1407	28,1400	< 0,1%
	Zeitpunkte (B)	6	9,1065	1,5177	303,5400	< 0,1%
	Wechselwirkung AB	6	0,0233	0,0038	0,7600	n. s.
	Restvarianz	42	0,2109	0,0050	- - -	
	Insgesamt	55	9,4814	- - -		
MILZ	Eiweißchargen (A)	1	0,0338	0,0338	8,2439	< 1%
	Zeitpunkte (B)	6	5,0179	0,8363	203,9756	< 0,1%
	Wechselwirkung AB	6	0,0476	0,0079	1,9268	n. s.
	Restvarianz	42	0,1743	0,0041	- - -	
	Insgesamt	55	5,2736	- - -		
NIEREN	Eiweißchargen (A)	1	0,0067	0,0067	1,7631	n. s.
	Zeitpunkte (B)	6	6,5072	1,0845	285,3947	< 0,1%
	Wechselwirkung AB	6	0,0120	0,0020	0,5263	n. s.
	Restvarianz	42	0,1634	0,0038	- - -	
	Insgesamt	55	6,6893	- - -		
LEBER	Eiweißchargen (A)	1	0,0030	0,0030	0,6521	n. s.
	Zeitpunkte (B)	6	4,4987	0,7497	162,9782	< 0,1%
	Wechselwirkung (AB)	6	0,0496	0,0082	1,7826	n. s.
	Restvarianz	42	0,1960	0,0046	- - -	
	Insgesamt	55	4,7473	- - -		

f = Zahl der Freiheitsgrade

SAQ = Summe der Abweichungsquadrate

MAQ = Mittelwert der Abweichungsquadrate

F = Prüfwert, der angibt, um welchen Faktor die untersuchte Varianz größer ist als die Restvarianz

n. s. = nicht signifikant

P = Irrtumswahrscheinlichkeit

Tabelle 8:

Zusammenstellung der Ergebnisse der doppelten Varianzanalysen mit Wiederholungen für den Gammaglobulinversuch.

Organ	Variationsursache	f	SAQ	MAQ	F	signifik. bei P
SERUM	Eiweißchargen (A)	1	2,9935	2,9935	144,6135	0,1%
	Zeitpunkte (B)	6	5,6529	0,9421	45,5120	0,1%
	Wechselwirkung AB	6	0,2849	0,0473	2,2850	5%
	Restvarianz	42	0,8729	0,0207	- - -	
	Insgesamt	55	9,8032	- - -		
THYMUS	Eiweißchargen (A)	1	1,4447	1,4447	137,5904	0,1%
	Zeitpunkte (B)	6	4,0742	0,6790	64,6666	0,1%
	Wechselwirkung AB	6	0,1603	0,0267	2,5488	5%
	Restvarianz	42	0,4430	0,0105	- - -	
	Insgesamt	55	6,1222	- - -		
HERZ	Eiweißchargen (A)	1	1,8389	1,8389	204,3222	0,1%
	Zeitpunkte (B)	6	4,3579	0,7263	80,7000	0,1%
	Wechselwirkung AB	6	0,1535	0,0255	2,8333	5%
	Restvarianz	42	0,3805	0,0090	- - -	
	Insgesamt	55	6,7008	- - -		
LUNGE	Eiweißchargen (A)	1	1,8026	1,8026	305,5254	0,1%
	Zeitpunkte (B)	6	4,4320	0,7386	125,1864	0,1%
	Wechselwirkung AB	6	0,2212	0,0368	6,2372	0,1%
	Restvarianz	42	0,2489	0,0059	- - -	
	Insgesamt	55	6,7047	- - -		
MILZ	Eiweißchargen (A)	1	0,7585	0,7585	130,7758	0,1%
	Zeitpunkte (B)	6	5,7343	0,9557	164,7758	0,1%
	Wechselwirkung AB	6	0,0596	0,0099	1,7068	n. s.
	Restvarianz	42	0,2439	0,0058	- - -	
	Insgesamt	55	6,7963	- - -		

Organ	Variationsursache	f	SAQ	MAQ	F	signifik. bei P
NIEREN	Eiweißchargen (A)	1	0,8247	0,8247	158,5961	0,1%
	Zeitpunkte (B)	6	2,8153	0,4692	90,2307	0,1%
	Wechselwirkung AB	6	0,1319	0,0219	4,2115	1%
	Restvarianz	42	0,2185	0,0052	- - -	
	Insgesamt	55	3,9904	- - -		
LEBER	Eiweißchargen (A)	1	0,3675	0,3675	44,8170	0,1%
	Zeitpunkte (B)	6	1,8647	0,3107	37,8902	0,1%
	Wechselwirkung AB	6	0,2224	0,0370	4,5121	1%
	Restvarianz	42	0,3465	0,0082	- - -	
	Insgesamt	55	2,8011	- - -		

An Hand der Mittelwertskurven des Abfalls der spezifischen Aktivitäten mit der Zeit dokumentiert sich diese Wechselwirkung besonders beim Gammaglobulinversuch derart, daß die Mittelwertskurven der nativen und denaturierten Proteinchargen eine unterschiedliche Neigung haben (Abb. 11, 13 und 14); im Extremfall kommt es zur Kreuzung beider Kurven (Abb. 14). Zu Beginn des Untersuchungszeitraumes, d. h. am 2. Tag, besteht beim Gammaglobulinversuch eine große Differenz zwischen den Mittelwerten, die sich im Laufe der Zeit infolge der unterschiedlichen Neigung beider Kurven verringert; dabei zeigt die Aktivitätskurve der nativen Charge stets einen steileren Abfall. Die große Differenz zwischen den Mittelwerten der spezifischen Aktivitäten am 2. Tag läßt an eine schnelle selektive Eliminierung des denaturierten Testproteins durch das RES zu diesem Zeitpunkt denken.

Die Wechselwirkung war beim Gammaglobulinversuch an den Organen Lunge ($P < 0,1\%$), Nieren, Leber ($P < 1\%$), Thymus, Herz ($P < 5\%$) und am Serum ($P < 5\%$) nachweisbar; nur die Milz zeigte keine signifikante Wechselwirkung. Eine Wechselwirkung mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\leq 5\%$ wies beim Albuminversuch nur das Organ Thymus auf.

4. Die Restvarianz ergibt sich nach Abzug der MAQ der drei vorher besprochenen Varianzen von der Gesamtvarianz; es wird bei der doppelten Varianzanalyse geprüft, ob die durch verschiedene Einflußfaktoren bedingte Varianz gesichert größer ist als die Varianz zwischen den Wiederholungen, dem Versuchsfehler (= Restvarianz). Der Quotient der Varianzen zwischen

den Behandlungsarten (A), Zeitpunkten (B), Wechselwirkung (AB) durch die Restvarianz wird nach der F-Verteilung mit den entsprechenden Freiheitsgraden in Zähler und Nenner beurteilt.

Halbwertszeit

Bei der im vorigen Kapitel geschilderten zeichnerischen Ermittlung der Halbwertszeiten wurden folgende Werte ermittelt: Es ergab sich eine Halbwertszeit von 2,8 Tagen für natives und von 2,6 Tagen für denaturiertes Albumin; für das Gammaglobulin wurde die Halbwertszeit beim nativen Protein mit 3,4 Tagen und dem denaturierten mit 4,6 Tagen bestimmt.

Tabelle 9:

Relative Aktivitäten (Mittelwerte) der untersuchten Organe beim Albuminversuch:

Tag der Unters.	Eiweiß-charge	Serum	Thymus	Herz	Lunge	Milz	Nieren	Leber
2.	nativ	72,19	0,29	1,30	3,05	1,40	4,29	17,48
	denat.	68,52	0,28	1,29	3,29	1,49	4,66	20,47
4.	nativ	70,44	0,22	1,13	3,20	1,17	4,35	19,49
	denat.	67,64	0,24	1,34	3,27	1,33	4,99	21,19
6.	nativ	65,49	0,25	1,24	3,21	1,50	4,60	23,71
	denat.	63,71	0,20	1,20	3,14	1,54	5,24	24,97
8.	nativ	62,61	0,31	1,35	3,46	1,98	5,20	25,09
	denat.	55,97	0,29	1,28	2,94	1,75	5,46	32,31
10.	nativ	55,20	0,25	1,25	3,30	1,88	5,75	32,36
	denat.	53,24	0,28	1,13	2,43	1,96	5,57	35,39
12.	nativ	55,07	0,26	1,28	3,29	2,50	5,77	31,83
	denat.	48,12	0,26	1,20	2,90	2,17	6,38	38,97
14.	nativ	51,50	0,25	1,30	3,02	2,50	6,54	35,09
	denat.	38,31	0,30	1,18	2,94	2,82	7,07	47,38

Abb. 17

Graphische Darstellung der in Tabelle 9 angegebenen relativen Aktivitäten der Organe für das native Albumin.

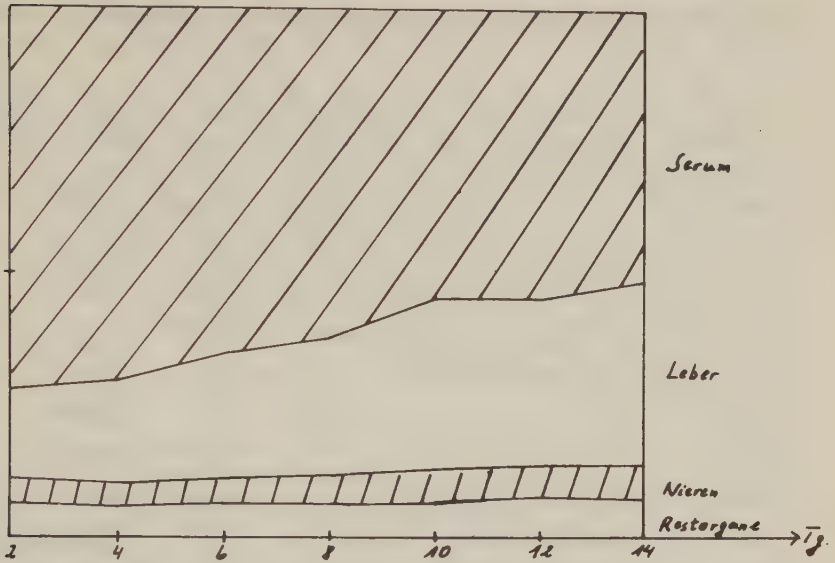
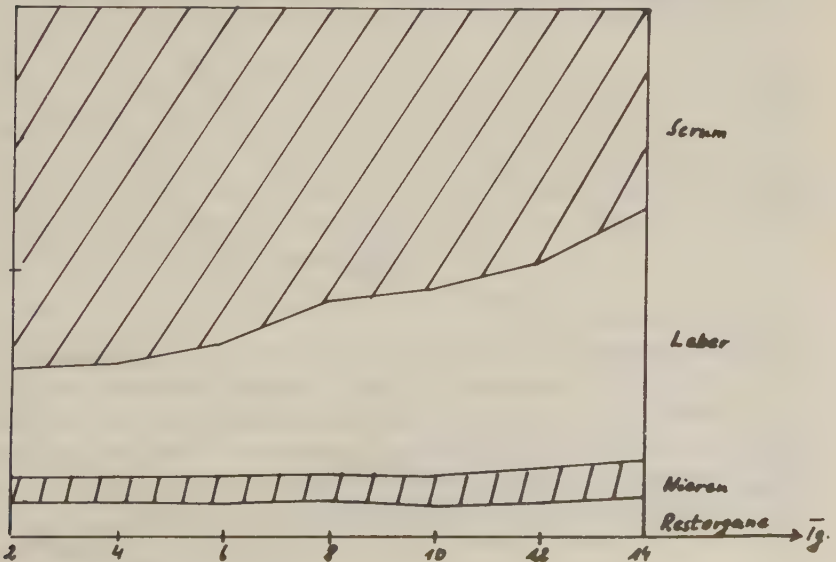


Abb. 18

Graphische Darstellung der in Tabelle 9 angegebenen relativen Aktivitäten der Organe für das denaturierte Albumin.



Graphische Darstellung der in Tabelle 10 angegebenen relativen Aktivitäten der Organe für das native Gammaglobulin.

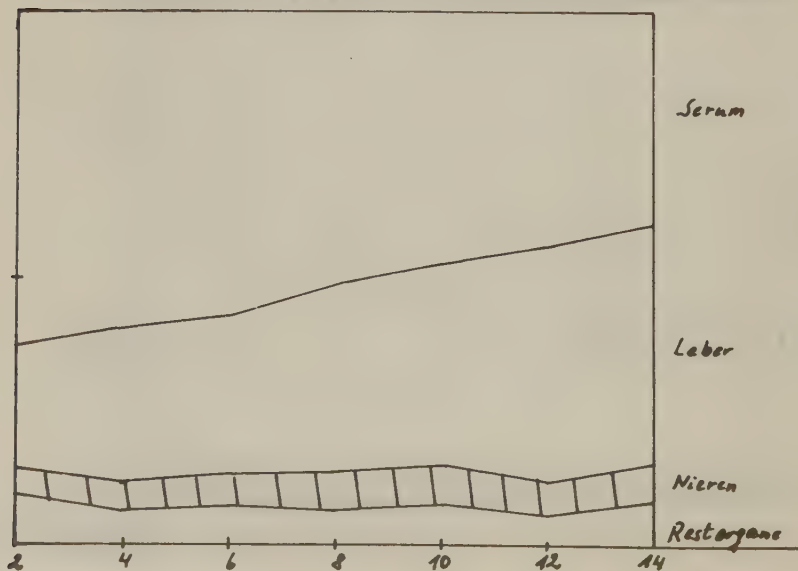
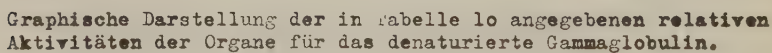


Tabelle 10:

Relative Aktivitäten (Mittelwerte) der untersuchten Organe beim Gammaglobulinversuch:

Tag der Unters.	Eiweiß-charge	Serum	Thymus	Herz	Lunge	Milz	Nieren	Leber
2.	nativ	73,26	0,27	1,19	5,11	0,91	3,78	15,47
	denat.	62,83	0,32	1,13	6,44	1,67	5,14	22,46
4.	nativ	71,61	0,27	1,23	4,38	0,75	4,45	17,31
	denat.	59,82	0,34	1,14	3,78	1,12	5,38	28,41
6.	nativ	68,85	0,33	1,23	4,70	0,83	4,86	19,20
	denat.	57,19	0,29	1,21	4,47	1,10	5,94	29,80
8.	nativ	66,96	0,33	1,25	3,91	0,80	4,84	21,91
	denat.	51,29	0,32	1,21	4,16	0,89	6,68	35,45
10.	nativ	59,23	0,29	1,14	4,67	0,80	5,41	28,45
	denat.	47,53	0,31	1,25	5,30	0,89	6,92	37,80
12.	nativ	58,66	0,35	1,30	4,98	0,83	5,94	27,94
	denat.	44,10	0,30	0,98	3,46	0,83	6,29	44,04
14.	nativ	57,31	0,28	1,36	5,01	0,87	6,08	29,09
	denat.	39,99	0,33	1,20	5,54	1,07	7,40	44,47

$\frac{\ln 2 \times 100}{t}$

Nach der Beziehung $t \frac{1}{2}$ ($\ln$ = logarithmus naturalis; $t \frac{1}{2}$ = Halbwertszeit) konnte schließlich die Umsatzrate in Prozent des Gesamtbestandes an noch im Blut vorkommenden Testprotein errechnet werden (86). Vom nativen markierten Albumin wurden täglich 25% und vom denaturierten 26% eliminiert; für das Gammaglobulin betrug die tägliche Umsatzrate beim nativen Protein 23% und beim denaturierten 12%.

Relative Organaktivitäten

Die Ergebnisse der relativen Aktivitäten der untersuchten Organe beider Versuchsreihen sind in den Tabellen 9 und 10 zusammengestellt und in den Abbildungen 17 - 20 übersichtlich graphisch für Serum, Leber, Nieren und Restorgane dargestellt. Es zeigt sich eindeutig, daß die relative Serumaktivität bei den denaturierten Proteinen im Versuchsverlauf rascher abfällt als bei den nativ belassenen Kontrollen. Gleichzeitig steigt die Leberaktivität an,

wobei die Werte bei den denaturierten Proteinen entsprechend dem stärkeren Abfall im Serum einen höheren Zuwachs als die nativen Vergleichsproteine erfahren. Dieselbe Tendenz, allerdings weniger deutlich, zeigen auch die Nieren, während an den übrigen untersuchten Organen derartige Veränderungen nicht ersichtlich sind (s. Tab. 9 und 10). Wie die Zahlen in den Tabellen 9 und 10 zeigen, war die Leber von allen untersuchten Organen am stärksten am Umsatz der zugeführten Jod-131 markierten Plasmaproteine beteiligt. Dann folgen mit Abstand die Nieren, die gleichzeitig Eliminationsorgan des freien Jods sind. Den übrigen Organen schien, abgesehen vielleicht noch von der Lunge, keine wesentliche Bedeutung für die Elimination der verabreichten Jod-131 markierten homologen Plasmaproteine zuzukommen.

IV. DISKUSSION

Vergleichende Untersuchungen über das Stoffwechselverhalten können nur zwischen den beiden Chargen innerhalb einer Versuchsgruppe angestellt werden; infolge unterschiedlicher spezifischer Aktivitäten der verabfolgten Eiweißlösungen sind direkte Zahlenvergleiche über das Schicksal von injizierten Jod-131 markierten Albuminen und Gammaglobulinen nicht möglich.

Die Untersuchungen sollten möglichst zwei Fragen beantworten:

1. Bestehen eventuell Unterschiede im Stoffwechselverhalten zwischen den nativen und bei 65°C denaturierten Proteinchargen?
2. Welcher Anteil kommt den einzelnen untersuchten Organen am Umsatz der injizierten Jod-131 markierten Plasmaproteine zu?

ad 1. Es muß einleitend festgestellt werden, daß die untersuchten Plasmaproteine im Hinblick auf ihre Gewinnung und besonders infolge der Jod-131 Markierung einer gewissen nicht sicher abschätzbaren Denaturierung unterlagen (11, 26, 57).

Das verwendete als nativ bezeichnete Plasmaprotein ist also nur als relativ nativ im Vergleich zu dem bei 65°C denaturierten Plasmaprotein anzusehen.

Die Mittelwerte der spezifischen Aktivitäten der untersuchten Organe (s. Tab. 2-5) zeigen meist signifikante Unterschiede zwischen den nativen und denaturierten Eiweißchargen, was als unterschiedliches Verhalten beider Chargen im Stoffwechsel zu deuten sein dürfte. - Signifikante Unterschiede zwischen den mittleren spezifischen Aktivitäten der nativen und denaturierten Eiweißchargen zeigen beim Albuminversuch die Organe Serum, Thymus, Herz, Lunge und Milz, während sich an den Organen Nieren und Leber keine signifikanten

ten Unterschiede nachweisen lassen (s. Tab. 7). Beim Herzen könnte sich dieser signifikante Unterschied auch durch noch im Ventrikelsystem vorhandene Blutreste mit einer höheren Aktivität als die der Muskulatur erklären.

Hochsignifikante Unterschiede zwischen den mittleren spezifischen Aktivitäten der getesteten Organe finden sich beim Gammaglobulinversuch (s. Tab. 8). Diese Unterschiede dokumentieren sich bei graphischer Darstellung der Mittelwertkurven der spezifischen Aktivität beider Proteinchargen derart, daß die Kurven der nativen Gammaglobulinchargen stets deutlich über die der denaturierten liegen (Abb. 8 - 14); weniger eindeutig ist diese Tatsache beim Albuminversuch an den Mittelwertkurven der spezifischen Aktivität für die Organe Serum, Thymus, Herz, Lunge und Milz aus den Abbildungen zu ersehen (Abb. 1 - 5).

Es ist zu vermuten, daß die infolge der Hitzebehandlung alterierten Plasma-proteinmoleküle selektiv vom RES abgefangen werden (10, 13, 84). Die besonders große Differenz zwischen den mittleren spezifischen Aktivitäten beider Eiweißchargen beim Testen des markierten Gammaglobulins zu Beginn des Untersuchungszeitraumes ist durch die verstärkte Abfangfunktion des RES für denaturierte Plasmaeiweißmoleküle zu diesem Zeitpunkt zu erklären; es liegen zu diesem Termin wahrscheinlich wesentlich mehr denaturierte Gammaglobulinmoleküle als denaturierte Albuminmoleküle vor, bedingt durch die größere Empfindlichkeit des Gammaglobulins denaturierenden Einflüssen gegenüber (50). Die denaturierten Plasmaeiweißmoleküle unterliegen offensichtlich der vermehrten Phagocytose und Sequestration durch die Zellen des granulocytären und histiocytären Abwehrapparates.

Aus dem Verlauf der Regressionsgeraden y_R , die den Abfall der Plasmaaktivität in Abhängigkeit von der Zeit dokumentiert, wurden die Halbwertszeiten der nativen und denaturierten Jod-131 markierten Testproteine bestimmt. Die Halbwertszeit beträgt für natives Albumin 2,8 Tage und für denaturiertes 2,6 Tage; beim Gammaglobulin betragen die Halbwertszeiten für die native Proteincharge 3,4 Tage und für die denaturierte 4,5 Tage.

In Tabelle 11 sind zum Vergleich mit den eigenen ermittelten Werten die in der Literatur für beide Plasmaproteine der Ratte angegebenen Halbwertszeiten zusammengestellt:

Tabelle 11:

a) Albumin

Autor	Methode	ermittelte Werte
Weigle, W. O.	homologes J-131 markiertes Albumin i. v.	1,9 - 2,2 Tg.
Allison, A. C.	homologes J-131 markiertes Albumin i. v. und C-14 Aminosäuren per os	2,6 Tg.
Oeff, K. u. König, A.	homologes J-131 markiertes Albumin i. v.	2,8 Tg.
Müller-Seifert	homologes J-131 markiertes Albumin i. v.	3,1 - 3,8 Tg.
Maurer, W. und Müller, E. R.	S-35 Thioaminosäure per os	3 - 3,8 Tg.
Jeffay, H. und Winzler, R. J.	S-35 Methionin per os	3,7 Tg.

b) Gammaglobulin

Autor	Methode	ermittelte Werte
Weigle, W. O.	homologes J-131 markiertes Gammaglobulin i. v.	5,5 - 6 Tg.
Müller-Seifert	" " "	6,1 - 7,4 Tg.
Allison, A. C.	homologes J-131 markiertes Gammaglobulin i. v. und C-14 Aminosäuren per os	5,4 Tg.
Jeffay, H. und Winzler, R. J.	S-35 Methionin per os	5 Tg.

Die Übereinstimmung der für die Albuminchargen ermittelten Werte mit den Literaturangaben ist durchaus befriedigend, während die in den eigenen Versuchen im Vergleich zur Literatur verkürzt gefundenen Halbwertszeiten für die

Gammaglobuline den Schluß nahe legen, daß die anderen Untersucher mit präparativ weniger alterierten Gammaglobulinfraktionen gearbeitet haben.

Überraschend ist die längere Halbwertszeit beim denaturierten Gammaglobulin gegenüber dem nativen, da doch ganz allgemein die Vorstellung gilt, daß denaturierte Plasmaproteine schneller im Körper abgebaut werden.

Zur Erklärung dieses Phänomens können folgende Betrachtungen beitragen:

Die elektrophoretische Überprüfung der Testproteine hat gezeigt, daß sowohl die Albumin- als auch die Gammaglobulinchargen nicht rein waren, sondern alpha- bzw. beta-Globulinbeimengungen in nicht unbeträchtlichem Ausmaß aufwiesen. Demnach ist zu unterstellen, daß die Plasmaaktivitätskurven zur Bestimmung der Halbwertszeiten Summationskurven von wenigstens zwei oder mehreren unterschiedlichen Plasmaproteinen darstellen. Das Stoffwechselverhalten der jeweils gemeinsam untersuchten Plasmaproteinpaarlinge kann sich unter Denaturierungseinflüssen gleichsinnig oder gegenläufig ändern. Dabei lassen sich theoretisch folgende Kombinationen denken:

1. Albumin- und alpha-Globuline ändern, da sie relativ stabile Proteine etwa derselben Molekulargewichtsklasse darstellen, ihr Stoffwechselverhalten unter den Bedingungen der Hitzedenaturierung möglicherweise gleichsinnig, wobei die denaturierten Proteine eine verkürzte Halbwertszeit aufweisen.
2. Im Gammaglobulinkomponentenbereich (Gamma-G, -A und -M) handelt es sich von vornherein um eine hinsichtlich Molekulargröße und physikochemischen Eigenschaften uneinheitliche Plasmaproteinmischung, deren Buntheit durch Hinzutreten von beta-Globulinen ohne Immunkörperwirkung nur noch vergrößert wird.
 - a) Eine oder mehrere dieser beta-, gamma-Plasmaproteine könnten bei Hitzedenaturierung eine Halbwertszeit aufweisen, die in der summativen Additionskurve (s. Abb. 8) zum Tragen kommt.
 - b) Die Halbwertszeit einer Teilfraktion der untersuchten Gammaglobuline ist durch die Hitzedenaturierung verlängert worden. Diese Hypothese findet in zwei Angaben der Literatur eine gewisse Stütze:
 - α) Fragment III des Gammaglobulins, durch Papainisierung, einer schonenden Denaturierungsmethode gewonnen, zeigt gegenüber nativem Gammaglobulin eine etwas verlängerte Halbwertszeit (14).
 - β) Durch Adsorptionsversuche mit fraktioniert hitzedenaturierten Gammaglobulinen an der Oberfläche von Erythrocyten ist gezeigt worden, daß die Eiweißmoleküle bei fortschreitender Denaturierung Phasen

mit sehr unterschiedlichen physiko-chemischen Eigenschaften durchlaufen, wobei die Oberflächenaktivität teils gesteigert, teils vermindert wird (62). Da die Elimination denaturierter Proteine aus dem Organismus letztlich von der Geschwindigkeit abhängt, mit der die denaturierten Moleküle von den Zellen der parenteralen Verdauung aufgenommen werden können, läßt sich bei Berücksichtigung vorstehender Befunde durchaus vorstellen, daß zumindest ein Teil der Gamma-G-Globuline (oder der anderen in der Testlösung vorhandenen Proteine) bei halbstündiger Temperatureinwirkung von 65°C strukturell so verändert wird, daß zelluläre Aufnahme zum weiteren Katabolismus gegenüber nativem Protein erschwert ist.

Aus dem signifikant rascheren Aktivitätsabfall des denaturierten Gammaglobulins in den Organen darf geschlossen werden, daß das Gros der denaturierten Globuline rasch eliminiert wird und erst nach deren Ausscheidung die längere Halbwertszeit einer kleineren stoffwechselstabileren Fraktion zum Tragen kommt.

ad 2) Infolge ihres spezifischen und relativen Aktivitätsverhaltens ist die Leber als Hauptumsatzort der untersuchten Plasmaproteine anzusehen; das Organ mit der zweithöchsten relativen Aktivität, die Nieren, kommt neben dem Abbau wohl auch für die Eliminierung des im Plasma vorhandenen freien Jods in Frage (58, 59).

Wie die Tabellen 9 und 10 und die Abbildungen 17 - 20 zeigen, steigt proportional dem Aktivitätsabfall im Serum die Aktivität in der Leber und geringgradig in den Nieren an. Dagegen ist die durchschnittliche Gesamtaktivität (= relative Aktivität) der anderen Organe gering und zeigt keinen zunehmenden Trend.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Homologes Jod-131 markiertes natives und bei 65°C denaturiertes Albumin und Gammaglobulin wurde Ratten intravenös appliziert. Pro 100 g Lebendgewicht wurden 4,5 mg Protein in eine der Schwanzvenen injiziert und das Stoffwechselverhalten der Plasmaproteine über einen Zeitraum von 14 Tagen im Serum und den Organen Thymus, Herz, Lunge, Milz, Nieren und Leber studiert.

Zum Vergleich der Ergebnisse der Stoffwechseluntersuchungen der nativen und denaturierten Albumin- und Gammaglobulinchargen wurde eine doppelte Va-

rianalyse mit Wiederholungen durchgeführt. Die Berechnung erfolgte in Anlehnung an OSTLE (69); dabei ergab sich folgendes:

1. Beim Albuminversuch waren über den gesamten Untersuchungszeitraum betrachtet signifikante Unterschiede zwischen den spezifischen Aktivitäten der nativen und denaturierten Eiweißchargen im Serum und den Organen Herz, Lunge ($P < 0,1\%$), Milz ($P < 1\%$) und Thymus ($P < 5\%$) nachweisbar. Zwischen den spezifischen Aktivitäten beider Chargen ließen sich an Nieren und Leber keine statistisch gesicherten Unterschiede zeigen. Die Mittelwerte der spezifischen Aktivität lagen bei der nativen Albumincharge fast immer über denen der denaturierten (Tab. 2 und 3, Abb. 1-7). Die mittels der auf die Ordinate extrapolierten Regressionsgeraden y_R (dokumentiert den Abfall der spezifischen Aktivität im Serum im Laufe der Zeit) auf zeichnerischem Wege ermittelten Halbwertszeiten betrugen für das native Albumin 2,8 Tage und für das denaturierte 2,6 Tage. Daraus ergibt sich nach der Beziehung $t = \frac{\ln 2 \times 100}{1/2}$ (86) die Umsatzrate in Prozent des Gesamtbestandes an noch im Blut befindlichen Testprotein; von dem nativen Albumin wurden täglich 25% und von dem denaturierten 26% des Gesamtbestandes eliminiert.

Interessant war noch, ob die beiden Albuminchargen an verschiedenen Tagen unterschiedliches Verhalten zeigten (= Wechselwirkung); eine signifikante Wechselwirkung zeigte beim Albuminversuch aber nur das Organ Thymus.

2. Der Gammaglobulinversuch zeigte auf die gesamte Versuchsdauer bezogen hochsignifikante Unterschiede ($P < 0,1\%$) zwischen den spezifischen Aktivitäten beider Eiweißchargen für das Serum und alle untersuchten Organe.

Wie aus den Tabellen 4 und 5 und den Abbildungen 8 - 14 zu ersehen ist, liegen die Mittelwerte der spezifischen Aktivitäten beim nativen Testprotein stets deutlich über denen der denaturierten Proteincharge.

Was in den Abbildungen 8 - 14 auffällt, ist die verschiedene Neigung der Mittelwertkurven der spezifischen Aktivität; die Kurve der nativen Proteincharge hat meist eine stärkere Neigung als die flacher verlaufende Mittelwertkurve des denaturierten Gammaglobulins, wobei es im Extremfall zu Kreuzungen der Kurven kommt (Abb. 14).

Es waren also signifikante Wechselwirkungen an den Organen Lunge ($P < 1\%$), Nieren, Leber ($P < 1\%$), Thymus und Herz sowie im Serum ($P < 5\%$) nachzuweisen; nur an der Milz ließ sich keine signifikante Wechselwirkung feststellen.

Die große Differenz zwischen den Mittelwerten der spezifischen Aktivitäten der untersuchten Organe zu Beginn des Untersuchungszeitraumes läßt vermuten, daß das Hauptkontingent der denaturierten Gammaglobulinmoleküle schnell selektiv vom RES abgefangen wird.

Die an Hand der Neigung der Regressionsgeraden y_r des Serums ermittelten Halbwertszeiten betrugen für das native Protein 3,4 Tage und für das denaturierte 4,6 Tage. Der tägliche Umsatz ist also beim nativen Gammaglobulin mit durchschnittlich 23% und beim denaturierten mit 12% des gesamten im Organismus befindlichen markierten Proteins anzusetzen.

Die verlängerte Halbwertszeit des denaturierten Jod-131 markierten homologen Gammaglobulins wird diskutiert.

Es zeigte sich weiterhin, daß die Leber auf Grund ihres spezifischen und relativen Aktivitätsverhaltens als Hauptumsatzort der untersuchten Plasmaproteine anzusehen ist; mit Abstand folgen die Nieren, wobei aber zu bedenken ist, daß sie gleichzeitig Eliminationsorgane des durch Abbau der Testproteine fre werdenden Jod-131 sind. Die übrigen untersuchten Organe scheinen, abgesehen vielleicht noch von der Lunge, keine wesentliche Rolle für die Elimination der verabreichten Testproteine zu spielen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Allison, A. C.: Turnover of erythrocytes and plasma proteins in mammals.
Nature 188, 37-40 (1960)
2. Anderson, S. B., Glenert, J. and Wallewik, K.: Gamma-globulin turnover and intestinal degradation of gamma-globulin in the dog.
J. Clin. Invest. 42, 1873-81 (1963)
3. Armstrong, F., Margen, S. and Tarver, H.: Plasma protein. VII. Site of degradation of serum albumin.
Proc. Soc. Eptl. Biol. Med. 103, 592 (1960)
4. Barandun, S.: Die Gammaglobulin-Therapie. Chemische immunologische und klinische Grundlagen.
Basel-New York 1964
5. Barandun, S.: Das Antikörpermangelsyndrom (AMS) des Erwachsenen. Die gelben Hefte (Behringwerke) 9, 346 (1965)
6. Barandun, S., Aebersold, J., Bianchi, R., v. Muralt, G., Poretti, G. und Riva, G.: "Proteindiarrhoe". Zugleich ein Beitrag zur sogenannten essentiellen Hypoproteinämie.
Schweiz. med. Wschr. 90, 1458 (1960)
7. Barandun, S., Nussle, D., Witschi, H. P. und Buser, F.: Untersuchungen über den Durchtritt von Plasmaproteinen in das Darmlumen bei gesunden Kindern.
Schweiz. med. Wschr. 92, 316 (1962)
8. Bednarik, T., Rejnek, J. and Kneslova, V.: The fate of S-35 labeled heterologous gamma-globulin following intraperitoneal administration in rats.
Physiol. Bohemoslov. 11, 329-35 (1962)
9. Beeken, W. L., Volwiler, W., Goldsworthy, P. D., Garby, L. E., Reynolds, W. E., Stogsdill, R. and Stellmer, R. S.: Studies of J-131-albumin catabolism and distribution in normal young adults.
J. Clin. Invest. 41, 1312 (1962)
10. Benacerraf, B., Biozzi, G., Halpern, B. N., Stiffel, C. and Mouton, D.: Phagocytosis of heat-denaturated human serum albumin labeled with iodine-131 and its use as a mean of investigation liver blood flow.
Brit. J. Eptl. Pathol. 38, 35 (1957)
11. Bennhold, H. and Kallee, E.: Comparative studies on the half-life of J-131 labeled albumins and nonradioactiv humanserum albumin in a case of analbuminemia. *J. Clin. Invest.* 38, 863 (1959)

12. Berson, S. A. and Yalow, R.: Distribution and metabolism of J-131 labeled proteins in man.
Fed. Proc. 16, 13S (1957)
13. Biozzi, G., Halpern, B. N., Stiffel, C. and Mouton, D.: Quantitative study of the metabolic activity of the Kupffer cells on the heat-denaturated serum albumin labeled with iodine-131.
Brit. J. Eptl. Pathol. 39, 510 (1958)
14. Brambell, F. W. R., Hemmings, W. A. and Morris, J. G.: A theoretical model of gamma-globulin catabolism.
Nature 203, 1352 (1964)
15. Braunsteiner, H.: Die Plasmazelle. In: Physiologie und Physiopathologie der weißen Blutzellen.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1960, S. 284
16. Catsoulis, E. A., Rothschild, M. A., Oratz, M. and Franklin, E. C.: Gammaglobulin metabolism in rabbits immunized with autologous denaturated gamma-globulin.
Arthritis and Rheumatism 8, 38 (1965)
17. Cohen, S. and Freeman, T.: Metabolic heterogeneity of human gamma-globulin.
Biochem. J. 76, 475 (1960)
18. Cohen, S., Gordon, A. H.: Catabolism of plasma albumin by the perfused rat liver.
Biochem. J. 70, 544 (1958)
19. Cohen, S., Gordon, A. H. and Matthews, C.: Catabolism of gamma-globulin by the isolated perfused rat liver.
Biochem. J. 82, 197 (1962)
20. Cohen, S., Holloway, R. C., Matthews, C. and McFarlane, A. S.: Distribution and elimination of J-131 and C-14 labeled plasma proteins in the rabbit.
Biochem. J. 62, 143 (1956)
21. Cottier, H.: Zur Histopathologie des Antikörpermangelsyndroms.
Schweiz. med. Wschr. 88, 82 (1958)
22. Creskoff, A. J., Fitz-Hugh jr., T. and Farris, E. J.: In: Farris, E. J., Griffith, J. Q. jr.: The rat in laboratory investigation, S. 411. Sec. ed., Philadelphia-London-Montreal, copyright 1949 by J. B. Lippincott Company.
23. Dittmer, A.: Plasmaeiweiß und Elektrophorese.
VEB Gustav Fischer, Jena, 3. Aufl. (1965)

24. Fahey, J. L. and Robinson, A. G.: Factors controlling serum gamma-globulin concentration.
J. Eptl. Med. 118, 845 (1963)
25. Fleischmann, J. B., Porter, R. R. and Press, E. M.: The arrangement of the peptide chains in gamma-globuline.
Biochem. J. 88, 220 (1963)
26. Freeman, T.: The biological behavior of normal and denaturated human albumin.
Clin. Chim. Acta 4, 788 (1959)
27. Freeman, T., Gordon, A. H. and Hymphrey, J. H.: Distribution between catabolism of native and denaturated proteins by the isolated liver after carbon loading.
Brit. J. Eptl. Pathol. 39, 459 (1958)
28. Gitlin, D., Klinenberg, J. R. and Hughes, W. L.: Site of catabolism of serum albumin.
Nature 181, 1064 (1958)
29. Gordon, A. H.: The use of the isolated perfused liver to detect alterations of plasma proteins.
Biochem. J. 66, 255 (1957)
30. Gordon, A. H.: Catabolic rate of albumin doubly labeled with C-14 and J-131 in the isolated perfused rat liver.
Biochem. J. 80, 10P-11P (1961)
31. Gordon, R. S.: Exudative Enteropathy. Abnormal permeability of the gastrointestinal tract demonstrable with labeled polyvinylpyrrolidone.
Lancet 1959/I, 325
32. Grabar, P.: Entstehung der Antikörper.
Behringwerk-Mitteilungen 35, 19 (1958)
33. Grabar, P.: Die Rolle der Bluteiweißkörper bei der humoralen Abwehr.
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 66, 279 (1960)
34. Grassmann, W. und Hanig, K.: Ein einfaches Verfahren zur kontinuierlichen Trennung von Stoffgemischen auf Filterpapier durch Elektrophorese.
Naturwissenschaften 37, 397 (1950)
35. Green, M. and Miller, L. L.: Protein catabolism and protein synthesis in perfused rat livers of normal and alloxan-diabetic rats.
J. Biol. Chem. 235, 3202 (1960)
36. Gustavson, B. E. and Laurell, C. B.: Gamma-globulins in germ-free rats.
J. Eptl. Med. 108, 251 (1958)
37. Hagemann, E.: Ratte und Maus.
Walter de Gruyter-Verlag, Berlin 1960

38. Hartmann, F.: Utilization of protein in the small intestine.
Clin. Chim. Acta 4, 134 (1959)
39. Haurowitz, F.: Eiweißdenaturierung. In: Hoppe-Seyler-Thierfelder:
Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse
IV/1, 116-125, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1960
40. Haurowitz, F., Fleischer, S., Walter, H. and Leitze, A.:
The metabolism of isotopically labeled plasma proteins.
Proc. U. N. Intern. Conf. Peacefull Uses of Atomic Energy, 2 nd, 25,
111-114, Genf (1958)
41. Hawkins, J. D.: Possible sites of catabolism of rat serum albumin.
Biochem. J. 80, 210 (1961)
42. Heide, K.: Die Immunglobuline des menschlichen Serums.
Die gelben Hefte 9 (Behringwerke), 321 (1965)
43. Hitzig, W. H.: Die Plasmaproteine in der klinischen Medizin.
Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1963
44. Humphrey, J. H. and Fahey, J. L.: The metabolism of normal plasma
proteins and gamma-myeloma protein in mice bearing plasma cell
tumors.
J. Clin. Invest. 40, 1696 (1961)
45. Jeffay, H. and Winzler, R. J.: The metabolism of serum proteins.
I. The turnover rates of rat serum proteins.
J. Biol. Chem. 231, 101 (1958)
46. Katz, J., Rosenfeld, S. and Sellers, A. L.: Sites of plasma albumin
catabolism in the rat.
Amer. J. Physiol. 200, 1301 (1961)
47. Kerekes, M.: Electrophoresis of heat-denaturated serum proteins.
Acad. Rep. Populare Romine Studii Cercetari Biochim. 6, 251 (1964),
zit. nach Chem. Abstr. 59, 14 378h (1963)
48. Kerekes, M.: Trypanolysis of heat-denaturated globular proteins.
Acad. Rep. populare romini Studii Cercetari Biochim. 7, 205 (1964),
zit. nach Chem. Abstr. 61, 16 331b (1964)
49. Kerekes, M.: Strukturveränderungen bei hitzedenaturierten Serumeiweiß-
körpern.
Naturwissenschaften 50, 573 (1963)
50. Kovács, A. und Kerekes, M.: Elektrophoretische Untersuchungen erhitz-
ter Sera.
Zschr. ges. inn. Med. und ihre Grenzgebiete 16, 187 (1961)
51. Lang, K.: Biochemie der Ernährung.
Dr. Dietrich Steinkopf-Verlag, Darmstadt (1957)

52. Manske, R. F. and Blau, M.: Distribution in the rat of partially denaturated iodinated serum albumin.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 42, 133 (1964)
zit. nach Chem. Abstr. 60, 7134 a (1964)
53. Margen, S. and Tarver, H.: Comparative studies on the turnover of serum albumin in normal human subjects.
J. Clin. Invest. 35, 1161 (1956)
54. Maurer, W.: Über die Größe des Umsatzes von Plasma- und Körper-eiweiß.
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 66, 416 (1960)
55. Maurer, W. und Müller, E. R.: Albumine als Vorstufe von Globulinen im normalen Organismus der Ratte.
Biochem. Zschr. 326, 474 (1955)
56. Mc Cluskey, R. T., Miller, F. and Benacerraf, B.: Sensitation to denaturated autologous gamma-globulin.
J. Eptl. Med. 115, 253 (1962)
57. Mc Farlane, A. S.: Labelling of plasma proteins with radioactive iodine.
Biochem. J. 62, 135 (1956)
58. Mc Farlane, A. S.: Biological studies with labeled aminoacids and proteins. Proc. U. N. Intern. Conf. Peacefull Uses Atomic Energy, 2 nd, 25, Genf 1958
59. Mc Farlane, A. S.: Catabolism of Plasma proteins.
Lancet 1963/I, 131
60. Miller, L. L.: Entstehungsorte, Speicherorte und Umsatz der Serum-proteine.
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 66, 250 (1960)
61. Miller, L. L. and Bale, W. F.: Synthesis of plasma protein fractions except gamma-globulin by the liver.
J. Eptl. Med. 99, 125 (1954)
62. Müller, H. E.: Über die Adsorption von Proteinen in Abhängigkeit von ihrer Denaturierung.
Med. Diss. Mainz 1964
63. Müller-Seifert: Taschenbuch der medizinisch-klinischen Diagnostik.
Hrsg.: H. Frh. v. Kress, 68. Aufl. München 1962, S. 347
64. Niklas, A. und Poliwoda, H.: Zur Frage der biologischen Halbwertszeit menschlicher Albumine und Globuline.
Biochem. Zschr. 326, 97 (1954)
65. Nossal, G. V. J.: Antibody production by single cells. The histology of antibody production.
Brit. J. Eptl. Pathol. 40, 301 (1961)

66. Oeff, K.: Umsatz von radioaktiven Serumeiweißfraktionen.
III. Versuche am normalen Kaninchen.
Zschr. ges. exptl. Med. 123, 434 (1954)
67. Oeff, K. und König, A.: Untersuchungen mit radioaktiven Serumeiweißfraktionen.
Zschr. ges. exptl. Med. 127, 484 (1955)
68. Ortega, L. G. and Mellors, R. C.: Cellular sites of gamma-globulin.
J. Eptl. Med. 106, 627 (1957)
69. Ostle, B.: Statistics in research.
The Iowa State University Press, Ames/OWA, USA
2 nd ed. 1963, S. 324
70. Pendl, I. und Felix, K.: Plasmaproteine. In: Hoppe-Seyler-Thierfelder: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse IV/1, S. 212-250, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1960
71. Porter, R. R.: Separation and isolation of fractions of rabbit gamma-globulin containing the antibody and antigenic combining sites.
Nature 182, 670 (1958)
72. Porter, R. R.: The hydrolysis of rabbit gamma-globulin and antibodies with crystalline papain.
Biochem. J. 73, 119 (1959)
73. Reeve, E. B. and Roberts, J. E.: The catabolism of plasma albumin in the rabbit. Its rate and regulation.
J. Gen. Physiol. 43, 445 (1959)
74. Rejnek, J., Bednarik, T. and Kneslova, V.: The fate of S-35 labeled heterologous albumin following intraperitoneal application in rats.
Physiol. Bohemoslov. 11, 336 (1962)
75. Rothschild, M. A., Baumann, A., Yalow, R. S. and Berson, S. A.: Tissue distribution of J-131 labeled human serum albumin following intravenous administration.
J. Clin. Invest. 34, 1354 (1955)
76. Scheurlen, P. G.: Untersuchungen über die Regulation der Serumeiweißkörper.
Medizinische 33/34, 1246 (1958)
77. Schultze, B. und Maurer, W.: Über im Organismus des Kaninchens nach Injektion von S-35-beta- und gamma-Globulinen entstehende S-35-Albumine.
Biochem. Zschr. 329, 127 (1957)
78. Schultze, H. E. und Heide, K.: Der neueste Stand der Plasmaproteinforschung. In: Medizinische Grundlagenforschung.
Hrsg.: K. Fr. Bauer, III, 351-414, Stuttgart 1960

79. Schultze, H. E. und Schick, G.: Über neue Möglichkeiten intravenöser Gammaglobulin-Applikation.
Dtsch. med. Wschr. 87, 1643 (1962)
80. Segal, L.: Stufenweise Denaturierung von Eiweißen.
Acta Biol. Med. Germ. 10, 488 (1963)
81. Solomon, A., Waldmann, T. A. and Fahey, J. L.: Metabolism of normal 6, 6 S gammaglobulin in normal subjects and patients with macroglobulinemia and multiple myeloma.
J. Lab. and Clin. Med. 62, 1 (1963)
82. Steinfeld, J. L., Greene, F. E., Tabern, D. L., Paton, R. R. and Flick, A. L.: Degradation of iodinated human serum albumin prepared by various produres.
J. Lab. and Clin. Med. 51, 756 (1958)
83. Stobbe, H.: Zum Sekretionsmechanismus der Plasmazelle.
Schweiz. med. Wschr. 90, 1265 (1960)
84. Thorbecke, G. J., Maurer, P. H. and Benacerraf, B.: The affinity of the reticuloendothelial system for various modified serum proteins.
Brit. J. Eptl. Pathol. 41, 190 (1960)
85. Thorbecke, G. J., Sebestyen, M., Benacerraf, B. and Green, H.: Influence of reticuloendothelial blockade on turnover rate of homologous plasma proteins in mice.
Proc. Soc. Eptl. Biol. 99, 439 (1958)
86. Vetter-Veall: Radioisotopentechnik in der klinischen Forschung und Diagnostik. Hrsg.: Vetter, H. und Veall, B.
Verlag Urban und Schwarzenberg, München-Berlin 1960
87. Waldmann, T. A.: Gastrointestinal loss demonstrated by Cr-51-labeled albumin.
Lancet 2, 121 (1961)
88. Waterlow, J. C.: Protein metabolism.
Int. Symp., Leyden 25-29 Juni 1962, F. Gross-Verlag, Basel
89. Weigle, W. O.: Elimination of J-131 labeled homologous and heterologous serum proteins from blood of various species.
Proc. Soc. Eptl. Biol. and Med. 94, 306-9 (1957)
90. Wetterfors, J., Gullberg, R., Liljedahl, S. O., Plantin, L. O., Birke, G. and Ohlhagen, B.: Role of the stomach and small intestine in albumin breakdown.
Acta Med. Scand. 168, 347 (1960)

91. Williams, R. C. jr. and Kunkel, H. G.: Antibodies to rabbit gamma-globulin after immunizing with various preparations of autologous gamma-globulin.
Proc. Soc. Eptl. Biol. Med. 112, 554 (1963)
92. Wuhrmann, F. und Märki, H.: Dysproteinämien und Paraproteinämien.
Schwabe u. Co. Verlag, Basel-Stuttgart 1963

LEBENS LAUF

Ich, Karl-Heinz Klähn, wurde am 12.1.1935 in Pritzwalk/Prov.Brandenburg als Sohn des Dentisten Otto Klähn und seiner Ehefrau Erika, geb. Menger, geboren.

Von 1941-49 besuchte ich die Volks- und spätere Einheitsschule in Pritzwalk und von 1949-53 die Oberschule zu Perleberg, wo ich das Abitur ablegte. Seit Ende 1953 bin ich in Frankfurt am Main ansässig und arbeitete hier zunächst in einer Fabrik. 1955-57 war ich als Apothekerpraktikant beschäftigt und bestand danach das pharmazeutische Vorexamen; in dieser Zeit legte ich auch die Ergänzungsprüfung zum sowjetzonalen Abitur und das kleine Latinum ab.

Im November 1957 immatrikulierte ich mich an der Medizinischen Fakultät Frankfurt; von 1961-65 studierte ich in Mainz Medizin und Zahnmedizin. 1963 legte ich das medizinische und 1965 das zahnmedizinische Staatsexamen ab.

Nach einer zweijährigen Vorbereitungszeit als Medizinalassistent, die ein halbes Jahr wegen Krankheit unterbrochen werden mußte, erhielt ich im April 1968 die Bestallung als Arzt.

Ab Mai 1968 bin ich am Hygiene-Institut Frankfurt/M. als wissenschaftlicher Assistent tätig.

